

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



**ESTUDIO DE LA SEGURIDAD A CORTO Y LARGO PLAZO
DEL IMPLANTE INTRACORONARIO DE CÉLULAS
MONONUCLEADAS DE MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGA TRAS
UN INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Adolfo Villa Arranz

Bajo la dirección de los doctores

Pedro Luis Sánchez Fernández
Francisco Jesús Fernández-Avilés Díaz

Madrid, 2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



TESIS DOCTORAL

«ESTUDIO DE LA SEGURIDAD A CORTO Y LARGO
PLAZO DEL IMPLANTE INTRACORONARIO DE CÉLULAS
MONONUCLEADAS DE MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGA TRAS
UN INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO»

Autor: Adolfo Villa Arranz
Directores: Pedro Luis Sánchez Fernández
Francisco Jesús Fernández-Avilés Díaz

Madrid, 2012

Don *Francisco J. Fernández-Avilés Díaz*, Catedrático de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, y Don *Pedro Luis Sánchez Fernández*, Profesor Asociado de Medicina en la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICAN

Que Don *Adolfo Villa Arranz*, Licenciado en Medicina por la Universidad de Valladolid, ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado “*Estudio de la seguridad a corto y largo plazo del implante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga tras un infarto agudo de miocardio*”, que presenta como Tesis Doctoral para alcanzar el grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que así conste, firmamos la presente *en Madrid, a 1 de septiembre de 2011*.

Prof. Francisco J. Fernández-Avilés Díaz

Prof. Pedro Luis Sánchez Fernández

ÍNDICE GENERAL

Prefacio	9
Resumen	9
Fuentes de financiación	12
Agradecimientos	13
Glosario de términos	14
1. Introducción	17
2. Antecedentes y estado actual del tema	21
2.1. El remodelado ventricular adverso en el infarto agudo de miocardio y sus consecuencias	22
2.2. Estrategias de tratamiento en la prevención del remodelado ventricular adverso en el infarto agudo de miocardio	25
2.2.1. Estrategias de reperfusión epicárdicas y miocárdicas	25
2.2.1.1. Restauración precoz de la permeabilidad de la arteria responsable del infarto	25
2.2.1.2. Restauración tardía de la permeabilidad de la arteria responsable del infarto	27
2.2.2. Tratamientos dirigidos a aumentar la resistencia del miocardio a la isquemia	28
2.2.3. Tratamientos farmacológicos de reducción de carga y evitación de la esferificación ventricular	31
2.2.4. Técnicas quirúrgicas	35
2.2.5. Resincronización cardiaca	35
2.2.6. Reparación cardiaca con células madre adultas	35
2.2.6.1. Retos biológicos y clínicos en la terapia celular tras un infarto agudo de miocardio	35
2.2.6.2. El corazón tiene capacidad intrínseca de regeneración	36
2.2.6.3. Bases de la terapia con células madre aplicada al miocardio	36
2.2.6.4. Papel de los progenitores de médula ósea en la regeneración miocárdica	38
2.2.6.5. Primeros ensayos clínicos sobre terapia celular postinfarto agudo de miocardio	39

2.2.6.6. Metanálisis de ensayos clínicos con administración intracoronaria de células madre derivadas de médula ósea postinfarto agudo de miocardio	43
2.2.6.7. Metanálisis de ensayos clínicos con movilización celular con administración de G-CSF postinfarto agudo de miocardio	46
2.2.6.8. El escenario crónico	47
2.2.6.9. Seguridad de la terapia celular postinfarto agudo de miocardio	47
2.2.6.10. Factores críticos en la evaluación de la seguridad de la terapia celular aplicada a las enfermedades cardiovasculares	48
2.2.6.11. Información disponible sobre seguridad a largo plazo de la terapia celular postinfarto agudo de miocardio	52
3. Hipótesis y objetivos	55
3.1. Hipótesis	56
3.2. Objetivos	56
4. Metodología	57
4.1. Diseño del estudio	58
4.2. Selección de sujetos	61
4.3. Desarrollo del ensayo, variables y evaluación de la respuesta	63
4.4. Mecanismos de control de calidad. Recogida de datos. Plan de análisis estadístico	74
4.5. Aspectos éticos y legales	77
5. Resultados.	79
5.1. Seguridad del procedimiento de implante celular	81
5.2. Evolución clínica y eventos adversos	82
5.3. Arritmias ventriculares	84
5.4. Progresión de la aterosclerosis coronaria: reestenosis y pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent	87
5.5. Progresión de la aterosclerosis coronaria: vaso distal y arteria contralateral	93
5.6. Evolución de los parámetros de función microvascular	96
5.7. Evolución del remodelado ventricular	97
5.8. Impacto de la presencia de obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular izquierdo	100

6. Discusión.	105
6.1. Factibilidad y seguridad del procedimiento	106
6.2. Seguridad a corto y largo plazo tras el implante celular	
Evolución clínica de los pacientes	108
6.2.1. Arritmogenicidad	112
6.2.2. Progresión de la aterosclerosis coronaria: reestenosis y pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent	114
6.2.3. Progresión de la aterosclerosis coronaria: vaso distal y arteria contralateral	116
6.2.4. Evolución de los parámetros de función microvascular	117
6.2.5. Evolución del remodelado ventricular	118
6.2.6. Impacto de la presencia de obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular izquierdo	119
6.2.7. Limitaciones del estudio	121
<hr/> 7. Conclusiones.	123
<hr/> Bibliografía	127
<hr/> Anexos	161
Anexo 1. Índice de tablas	162
Anexo 2. Índice de figuras	163
Anexo 3. Publicaciones obtenidas como resultado de la realización de esta tesis	165
I. Artículos originales y <i>case reports</i>	166
II. Comunicaciones en congresos nacionales e internacionales	167
III. Artículos de revisión y capítulos de libros sobre terapia celular	171

Resumen

Introducción

La reducción de la mortalidad en la fase aguda del infarto merced a los avances terapéuticos han producido un incremento paradójico en la incidencia de insuficiencia cardiaca por remodelado ventricular adverso en los supervivientes. La búsqueda de tratamientos para prevenir dicho remodelado y la insuficiencia cardiaca subsecuente es uno de los desafíos más importantes de la investigación traslacional, en el que la terapia celular cobra especial relevancia.

Antecedentes y estado actual del tema

El remodelado postinfarto es un proceso complejo que deriva en disfunción sistólica ventricular e insuficiencia cardiaca. Con el objetivo de prevenirlo, la reparación cardiaca mediante terapia celular, y en concreto, a través de la administración intracoronaria de células madre adultas procedentes de médula ósea autóloga, ha sido la más estudiada. Sin embargo, el pequeño tamaño muestral de los estudios, la situación basal de bajo riesgo de los pacientes incluidos, y el corto periodo de seguimiento clínico no permiten despejar todas las dudas acerca de la seguridad esta estrategia a largo plazo.

Hipótesis y objetivos

El trasplante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con infarto agudo de miocardio extenso que han recibido terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario, es factible y seguro a corto y largo plazo. Asimismo, dicha terapia celular podría facilitar la recuperación de la perfusión microvascular, evitar el remodelado e inducir una mejoría de la función ventricular global y regional.

Metodología

Estudio piloto prospectivo en fase I. Se incluyeron entre septiembre de 2002 y agosto de 2005, tras firmar consentimiento informado, aquellos pacientes ingresados con el diagnóstico de infarto agudo de miocardio con ST elevado extenso y revascularización percutánea de vaso culpable. Mediante punción de cresta ilíaca y tras un procesado celular se seleccionó la fracción mononuclear que fue administrada por vía intracoronaria

en la segunda semana postinfarto. Se realizó un estrecho seguimiento clínico así como por técnicas de imagen cardíaca (coronariografía, ventriculografía por contraste y cardiorresonancia magnética a los 6-9 meses), con el objeto de evaluar el perfil de seguridad de la terapia y la evolución del remodelado ventricular a corto plazo. El seguimiento clínico se prolongó hasta que el seguimiento medio de los pacientes alcanzó 40 meses.

Resultados

Fueron incluidos 72 pacientes (59 ± 12 años), 63 de ellos varones (88%), en su mayoría tras un infarto de localización anterior (78%). Fue posible la extracción, procesado e inyección intracoronaria en todos los casos. Se administraron $92 \pm 54 \times 10^6$ células mononucleadas a los 10 ± 4 días del infarto, sin complicaciones clínicas relevantes, alteración de marcadores de daño miocárdicos ni del flujo microvascular. La media de seguimiento fue de 40 ± 10 meses (seguimiento mínimo de 12 meses en el 100% de los casos). Tres pacientes fallecieron por causas no cardíacas y 9 pacientes fueron hospitalizados por causa cardíaca (3 por arritmias ventriculares, 3 por reinfarto, 2 por angina inestable y 1 por insuficiencia cardíaca). A los 5 años de seguimiento, la probabilidad de supervivencia libre de sucesos cardiovasculares graves (muerte, reinfarto, revascularización de vaso culpable o ataque cerebral) fue del 79%. El seguimiento angiográfico no reveló un incremento de la tasa de reestenosis binaria ni mayor pérdida luminal tardía a la esperada, y tampoco se detectó progresión significativa de la enfermedad coronaria en el segmento distal del vaso culpable ni en arteria contralateral. En cuanto a la evolución de parámetros de remodelado ventricular, los estudios seriados de resonancia mostraron un incremento modesto en la FEVI (basal $47 \pm 10\%$ vs seguimiento $51 \pm 12\%$; $p < 0.001$), sin cambios significativos en los volúmenes ventriculares. Asimismo, el movimiento y grosor regional del área infartada mejoraron significativamente. La utilización de stents farmacoactivos no modificó la evolución de los parámetros ventriculares aunque se relacionó con menor incidencia de reestenosis e hiperplasia neointimal. Sin embargo, la presencia de obstrucción microvascular en el área infartada se asoció a un remodelado ventricular adverso en nuestros pacientes. Los parámetros de perfusión microvascular angiográficos y ultrasónicos (TIMI Myocardial Perfusion Grade y reserva de flujo coronario respectivamente) mostraron una tendencia positiva en el límite de la significación en el seguimiento.

Conclusiones

La inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con infarto agudo de miocardio extenso que han recibido terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario, es un tratamiento factible, y

presenta un perfil de seguridad excelente tanto a corto como a largo plazo. Asimismo, en nuestro estudio se observó una evolución favorable de la función ventricular y la perfusión microvascular del vaso culpable. Futuros ensayos clínicos en fase II-III deberían contar con mayor tamaño muestral, incluir a pacientes de mayor riesgo de desarrollar remodelado ventricular adverso (revascularización coronaria tardía, disfunción severa basal u obstrucción microvascular), y prolongar el seguimiento clínico. La seguridad de la terapia debería ser reevaluada siempre que se modifiquen las características de los pacientes tratados o la estrategia de tratamiento.

Fuentes de financiación

Este trabajo ha sido financiado parcialmente mediante ayudas de la Junta de Castilla y León y de las redes RECAVA y TERCEL (Red Cardiovascular y Red de Terapia Celular, Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación).

En ningún caso las fuentes de financiación participaron en el diseño del estudio, recogida, análisis e interpretación de datos, redacción de manuscritos o cualquier relación con los autores de aquellos que pudiera considerarse un conflicto de interés.

Agradecimientos

A Pedro Luis Sánchez, compañero y amigo desde la residencia, por su apoyo permanente, saber escuchar, y su consejo siempre desinteresado. Por ser mi referencia y un ejemplo en el trato humano a los pacientes.

A Francisco Fernández-Avilés, por su constante estímulo para superarme en el trabajo, y por darme la posibilidad de trabajar e integrarme plenamente en su equipo.

A los celadores, auxiliares, enfermeras, médicos e investigadores del Instituto de Ciencias del Corazón del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, del Servicio de Hematología del Hospital Río Hortega de Valladolid y del Instituto de Biología y Genética Molecular de la Universidad de Valladolid, que participaron, en muchos casos desinteresadamente, en la realización de esta investigación, por su disponibilidad y diligencia en el trabajo siempre que fue preciso.

A Itziar Gómez, por su excelente dedicación en una situación de urgencia casi constante. A Roman Arnold, por su compañerismo y gran trabajo en equipo. A Cristina Tapia, generosa en el trabajo, por su ayuda en el seguimientos de pacientes. A Pedro Mota, por su disponibilidad y buen hacer.

A M^a Eugenia Fernández, por transmitir ilusión con su trabajo, tanto visible como en la sombra, columna vertebral de este trabajo desde el laboratorio.

A Ana Fernández-Baza, por hacer, siempre con una sonrisa, fácil lo imposible.

A Carmen Uriarte y Yoyi Quiñones, por su generosidad y su excelente trabajo de maquetación.

A mis padres, por su ejemplo en la dedicación plena y simultánea a la familia y el trabajo, inculcándome valores.

A mi hija Lucía, por el tiempo que te he robado, y por haber cambiado el mundo a mis ojos.

A Lucía, mi mujer, por tu apoyo incondicional en los buenos y en los malos momentos, tus sacrificios desinteresados y tu alegría. Por darle sentido a todo.

Glosario de términos

AHA	Asociación Americana del Corazón (<i>American Heart Association</i>)
ARA-II	Antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina-II
ATP	Adenosín-trifosfato
B.O.C.Y.L.	Boletín Oficial de Castilla y León
CCS	Sociedad Cardiovascular Canadiense (<i>Canadian Cardiovascular Society</i>)
CK ó CPK	Creatín-kinasa o Creatín-fosfokinasa
CK-MB ó CPK-MB	Fracción MB de la Creatín-kinasa o Creatín-fosfokinasa
CM	Células madre
CMNMOA	Células mononucleadas de médula ósea autóloga
CNMOA	Células nucleadas de médula ósea autóloga
CPC	Células progenitoras circulantes
CRD	Cuaderno de recogida de datos
CRF	Reserva de flujo coronario (<i>Coronary Flow Reserve</i>)
DA/CX/CD	Arteria coronaria Descendente Anterior/ Circunfleja/ Derecha
DE	Desviación estándar
DLM	Diámetro luminal mínimo
DR	Diámetro de referencia
ECG	Electrocardiograma
FEVI	Fracción de eyección de ventrículo izquierdo
FFR	Reserva fraccional del flujo coronario (<i>Fractional Flow Reserve</i>)
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular
G-CSF	Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>)
GM-CSF	Factor Estimulante de colonias de Granulocitos y Macrófagos (<i>Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>)
GMP	Estándar de fabricación <i>Good Manufacturing Practice</i>
IC	Insuficiencia cardiaca
ICICOR	Instituto de Ciencias del Corazón (Hospital Clínico Universitario de Valladolid)
IAM	Infarto agudo de miocardio
IAMSTE	Infarto agudo de miocardio con ST elevado
ICP	Intervencionismo coronario percutáneo
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina

IMR	Índice de motilidad regional
INE	Instituto Nacional de Estadística
iPS	Células madre pluripotenciales inducidas (<i>induced-Pluripotent Stem Cells</i>)
IVUS	Ultrasonidos intravasculares (<i>Intravascular Ultrasound</i>)
MACCE	Acontecimiento adverso cardíaco o cerebrovascular grave (<i>Major adverse cardiac and cerebrovascular events</i>)
MC	Miocardiopatía
MMP	Metaloproteinasas de la matriz (<i>matrix metalloproteinases</i>)
MSC	Células mesenquimales (<i>mesenchymal stem cells</i>)
MV	Masa ventricular
NYHA	Asociación del Corazón de Nueva Cork (<i>New York Heart Association</i>)
OAD	Oblicua anterior derecha (proyección angiográfica)
OAI	Oblicua anterior izquierda (proyección angiográfica)
OMP	Obstrucción microvascular persistente
PA	Posteroanterior (proyección angiográfica)
SINaH	Sistema de intercambio Na ⁺ /H ⁺
TFG-β	Factor de crecimiento transformador-beta
TLR	Revascularización de la lesión culpable (<i>Target Lesion Revascularization</i>)
TMPG	Grado de Perfusión Miocárdica TIMI (<i>TIMI Myocardial Perfusion Grade</i>)
TnT	Troponina T
TVR	Revascularización del vaso culpable (<i>Target vessel revascularization</i>)
UNL	Límite superior de normalidad (<i>upper normal limit</i>)
VEGF-A	Factor de crecimiento del endotelio vascular-A (<i>Vascular Endotelial Growth Factor-A</i>)
VI	Ventrículo izquierdo
VTs (VI)	Volumen telesistólico (de ventrículo izquierdo)
VTd (VI)	Volumen telediastólico (de ventrículo izquierdo)
WMSI	Índice de motilidad parietal (<i>Wall motion score index</i>)

1. Introducción

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte de la población occidental. En España, lideran la causalidad de la mortalidad total desde que el Instituto Nacional de Estadística (INE) permite el acceso libre a sus datos (Estadística de Defunciones según la Causa de Muerte, periodo 1980-2009), con 120,053 muertes de este origen en el año 2009, lo que representa el 31% de todas las muertes, con una tasa bruta de mortalidad de 261 por 100,000 habitantes (nota de prensa del INE 2011).¹

El protagonista fundamental de la mortalidad cardiovascular es el infarto de miocardio (IAM). A pesar de que los avances terapéuticos de las últimas décadas han disminuido la mortalidad de la fase aguda del infarto de miocardio y han conseguido mejorar el pronóstico del mismo esta enfermedad tiene todavía una mortalidad aguda muy elevada (10-30%) y causa el 64% de las muertes cardíacas.² Además, como efecto paradójico de estos avances, existe una proporción elevada y creciente de pacientes con infarto extenso que sobreviven a la fase aguda, pero desarrollan posteriormente insuficiencia cardíaca crónica por expansión del área infartada, dilatación cardíaca progresiva (fenómeno conocido como remodelado) y fallo de bomba. De hecho, a través de dicho mecanismo, el infarto constituye la causa más frecuente de insuficiencia cardíaca crónica, síndrome de elevada importancia socio-sanitaria por su alta prevalencia, su incidencia rápidamente creciente asociada al infarto, su mal pronóstico, y su efecto invalidante y causante de hospitalizaciones. Las previsiones estiman que 500.000 españoles tendrán un infarto de miocardio, cifra que habrá que sumar a los ahora aproximadamente 2.8 millones de supervivientes.

Por todo ello, los desafíos más importantes de la investigación de rápida traslación en este campo consisten en:

1. mejorar la eficacia de las terapias de reperusión arterial epicárdica y microvascular,
2. desarrollar nuevos tratamientos dirigidos a aumentar la resistencia del miocardio a la isquemia y,
3. regenerar/ reparar el tejido microvascular y muscular destruido por la necrosis infartada.

Del análisis de las pruebas disponibles en el momento actual se puede concluir que disponemos de dos terapias eficaces de *reperusión* epicárdica: la trombólisis y la angioplastia primaria. Ambas tienen ventajas e inconvenientes. La angioplastia primaria es la más eficaz,³⁻⁵ puesto que logra la *reperusión* en un porcentaje mayor de pacientes, pero su disponibilidad es limitada por la compleja logística. Sólo una baja proporción de pacientes (aproximadamente uno de cada cuatro) con infarto agudo de miocardio se beneficia de esta estrategia de *reperusión* en el momento actual, incluso en el mundo occidental.⁶⁻⁸ La trombólisis, aunque menos eficaz que la angioplastia primaria, tiene la ventaja incuestionable de su fácil aplicabilidad y, por lo tanto, su disponibilidad para todos los pacientes con infarto agudo de miocardio. Así el interés en este campo de investigación se ha centrado en la búsqueda de estrategias eficaces, y accesibles, muchas veces combinando dichas terapias y otras buscando nuevos fármacos antiagregantes con el objeto de mejorar los resultados de la *reperusión*.

El interés en desarrollar nuevos tratamientos dirigidos a *aumentar la resistencia* del miocardio a la isquemia se ha basado fundamentalmente en combatir la lesión por *reperusión* bien mediante la utilización de soluciones ionizantes de glucosa-insulina-potasio, el enfriamiento miocárdico o tratamientos farmacológicos en el momento de la *reperusión* mecánica.

En lo referente a la *capacidad regenerativa del tejido miocárdico humano*, la investigación básica y clínica reciente sugiere que las células madre/progenitoras podrían tener un efecto regenerativo neoangiogénico y neomiogénico beneficioso para el corazón infartado cuando se aplican de forma directa (trasplante intracoronario o intramiocárdico) o indirecta (movilización medular con factores), lo que ha generado la esperanza de que ello podría prevenir el desarrollo de insuficiencia cardíaca, evitando el remodelado y el fallo de bomba cuando se aplican en la fase aguda, y podría mejorar la contractilidad de las zonas con necrosis ya establecida y la consecuente función sistólica cuando se aplican en el infarto crónico ya establecido.

Sobre esta base, en esta sección del estudio revisamos el concepto de remodelado ventricular adverso, profundizando en las estrategias de tratamiento en investigación disponibles hoy en día, con especial interés las terapias de regeneración/repelación miocárdica y vascular tras un infarto agudo de miocardio mediante la aplicación de células madre totipotenciales. Particular énfasis pondremos en la información, aún escasa, referente a la seguridad a corto y largo plazo del uso de células madre en este contexto clínico, lo que justifica en sí esta tesis.

2. Antecedentes y estado actual del tema

2. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

2.1. El remodelado ventricular adverso en el infarto agudo de miocardio y sus consecuencias

El infarto agudo de miocardio produce una respuesta adaptativa en el miocardio conocida como remodelado ventricular postinfarto, proceso caracterizado por una expansión mecánica de la pared infartada, seguida de una progresiva dilatación y disfunción ventricular. La magnitud de este proceso es proporcional a la cantidad de miocardio infartado, a la permeabilidad de la arteria responsable del infarto y a las condiciones de llenado ventricular.⁹ Dicho remodelado ventricular es un proceso complejo que no se comprende en su totalidad. Parece que hay múltiples vías de retroalimentación que responden a los acontecimientos mecánicos, así como a la estimulación neurohormonal y la liberación de citocinas y otros agentes, todavía sin identificar. La progresión del remodelado ventricular después de los acontecimientos indicados incluye: disminución y reducción de miocitos en el área infartada,¹⁰ dilatación de la cámara,¹¹ fibrosis y formación de cicatriz, disolución del colágeno y acumulación excesiva de la matriz intersticial,¹² aumento del estrés de pared,¹³ hipertrofia de miocito,¹⁴ activación neurohormonal,¹⁵ liberación de citocinas, necrosis y apoptosis celular y dilatación con deterioro mantenido de la función cardíaca.¹⁶⁻¹⁹ Es difícil ordenar la secuencia de acontecimientos, porque los múltiples sistemas de retroalimentación crean un proceso interactivo. Sin embargo, conocemos que la respuesta celular, molecular y estructural que se produce postinfarto es secuencial, y se ha dividido clásicamente en precoz y tardía, ocurriendo la primera en los tres primeros días y la segunda posteriormente.⁹ El remodelado precoz ocurre principalmente en el área del infarto y circundante mientras que el remodelado tardío afecta al tamaño y geometría ventricular de forma global.

Uno de los cambios más tempranos observados en el remodelado ventricular es la expansión en el área infartada, fenómeno en el que el tamaño del infarto típicamente se incrementa en los primeros días. Esto no necesariamente implica un aumento de la necrosis miocárdica. Por el contrario, el mecanismo postulado involucra rotura celular, disminución en el espacio intercelular, alargamiento en la forma de los miocitos dando lugar a una reducción en el número de cardiomiocitos.¹⁰ La magnitud en la expansión del área infartada varía desde la ausencia de significación clínica a la rotura cardíaca. Los factores identificados como predictores de este fenómeno precoz son la localización del infarto, el tamaño inicial del mismo, el grosor de la pared miocárdica infartada, y las condiciones de llenado ventricular. Así hasta en la mitad de los infartos de localización anterior es evidente este fenómeno de expansión en el área infartada.²⁰

El remodelado ventricular afecta también al miocardio sano. Así, como respuesta al cambio en las condiciones del llenado ventricular que se produce, el ventrículo se dilata de forma global.²¹ Este proceso que comienza de forma inmediata se prolonga durante meses y en él se han identificado los mismos factores predictores previamente mencionados, en especial el infarto de localización anterior.^{20,22-24}

La activación neurohormonal juega un papel fundamental en este fenómeno de remodelado tanto a nivel hemodinámico como celular. El sistema nervioso simpático, vía norepinefrina, media la activación de radicales libres y del factor de necrosis tumoral, los cuales inducen apoptosis en los cardiomiocitos.²⁵ La pérdida de cardiomiocitos contribuye a la progresiva dilatación ventricular. Otro de los sistemas activados tras el infarto de miocardio es el sistema renina-angiotensina-aldosterona. La respuesta de este sistema ante la disminución en el gasto cardíaco es similar a la que se produce ante la pérdida de sangre o deshidratación. La renina se incrementa en sangre, la actividad de la angiotensina II aumenta, se libera aldosterona y finalmente aumenta la vasopresina. La activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona incrementa el volumen plasmático, disminuye la excreción de sodio y aumenta el tono vascular. A nivel regional en la zona infartada, la aldosterona facilita el depósito de colágeno.²⁶

Estos dos sistemas, simpático y renina-angiotensina-aldosterona, desempeñan un papel fundamental en el complejo mecanismo celular, molecular y estructural que se produce en el remodelado ventricular, y que se intenta ilustrar en la Figura 1.

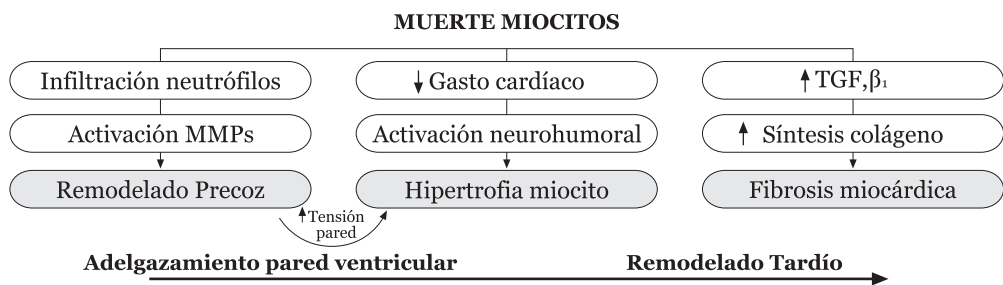


Figura 1. Esquema del remodelado ventricular adverso postinfarto.

Con la muerte de los cardiomiocitos, se produce infiltración de células inflamatorias en la zona del infarto, principalmente neutrófilos, produciéndose activación de las metaloproteinasas (MMPs), que rompen la matriz de soporte de los miocitos provocando adelgazamiento de la pared ventricular en la región del infarto, expansión de la misma y dilatación ventricular. Asimismo, la muerte celular provoca una disminución del gasto cardíaco, con activación del sistema neurohormonal. Esta activación neurohormonal contribuye a que la zona no infartada intente compensar el trabajo no realizado por la zona infartada y se produce hipertrofia del miocito. A dicha hipertrofia contribuye el estrés e incremento de la tensión en la pared ventricular provocado por el progresivo adelgazamiento y dilatación ventricular.

Finalmente, pasadas varias semanas del infarto, se produce un incremento en la expresión del factor de crecimiento transformador beta (TGF-β₁), incremento en la síntesis de colágeno y fibrosis miocárdica que completa la fase de remodelado ventricular.

Las consecuencias de este proceso de remodelado adverso y su consecuente manifestación clínica, la insuficiencia cardíaca, son por tanto fácilmente entendibles. La insuficiencia cardíaca es una enfermedad debilitadora y crónica que representa una gran carga para los pacientes, familiares, empresas y sistemas de salud.

La insuficiencia cardíaca afecta a unos 5 millones de pacientes en Estados Unidos, generando 2 millones de hospitalizaciones al año y origina una mortalidad incluso superior a muchos cánceres.²⁷⁻³⁰ La prevalencia en países europeos es de un 2-5%, (aumentando con la edad, siendo de hasta un 10% en mayores de 70 años) estimándose que actualmente afecta a 10 millones de personas en Europa. La incidencia en Europa es de 2 por 1.000 habitantes al año.³⁰⁻³³ En España un estudio asturiano objetivó una prevalencia del 5%, y se estima que más de 500.000 personas padecen insuficiencia cardíaca en nuestro país.³⁴ En el Hospital General Universitario Gregorio Marañón el proyecto *HOLA (Heart failure: Observation of Local Admissions)* realizado por nuestro servicio, mostró 2,5 hospitalizaciones por 1.000 pacientes al año por insuficiencia cardíaca (26,5 por 1.000 en mayores de 80 años).³⁵ La causa principal de dicha insuficiencia cardíaca es la cardiopatía isquémica, tanto en su presentación aguda como crónica.^{35,36}

De forma global la cardiopatía isquémica es en nuestro país, la primera causa individual de mortalidad en varones y la segunda en mujeres. Fue la responsable de la muerte de 20.316 varones (10,2% del total de muertes) y 15.291 mujeres (8,22% del total de muertes) en el año 2009.¹

El infarto agudo de miocardio con elevación de segmento ST (IAMSTE) es la forma de presentación de la cardiopatía isquémica que ocasiona una mayor mortalidad tanto en la fase aguda como en la crónica. En España se estima que en el año 2002 se produjeron unos 45.700 infartos en varones y 2.800 en mujeres. Si se asume una incidencia estable se estima que cada año se producirá un incremento del 2,3% en el número de infartos, incremento que se explica por el envejecimiento de la población española.³⁷ Los estudios poblacionales sitúan la letalidad por infarto agudo de miocardio en la población española de 35-64 años en el 33% en el estudio *REGICOR*;^{38,39} el 46% en el *MONICA-Cataluña*,⁴⁰ y el 38% en el estudio *IBERICA*.⁴¹ En el estudio *REGICOR*, la letalidad poblacional en mayores de 74 años a los 28 días fue del 68% y 67% en varones y mujeres respectivamente. En el año 2002 se estima que murieron 38.700 personas en los 28 días siguientes a presentar un infarto agudo de miocardio (23.505 varones y 15.195 mujeres); de éstos, el 54% de las muertes en varones y el 80% de las muertes en mujeres se presentaron en personas de más de 74 años.

2.2. Estrategias de tratamiento en la prevención del remodelado ventricular adverso en el infarto agudo de miocardio

2.2.1. Estrategias de reperfusión epicárdicas y miocárdicas

2.2.1.1. Restauración precoz de la permeabilidad de la arteria responsable del infarto

El objetivo inicial del tratamiento en el IAMSTE es conseguir reestablecer la perfusión epicárdica y miocárdica de forma completa, precoz y mantenida.⁴² La apertura precoz y mantenimiento de la arteria responsable del infarto disminuye el tamaño del infarto, mejora la hemodinámica ventricular izquierda y atenúa el remodelado ventricular.⁹

Existen dos tratamientos bien establecidos que pretenden conseguir la restauración precoz, completa y mantenida de la perfusión epicárdica y miocárdica en pacientes con infarto agudo de miocardio: la administración de fibrinolítico intravenoso y la realización de una angioplastia primaria. Ambas tienen ventajas e inconvenientes. A modo de resumen la angioplastia primaria es sin duda más eficaz,³⁻⁵ al lograr un porcentaje de reperfusión mayor, pero su disponibilidad es limitada debido a su compleja logística. La trombolisis, aunque menos eficaz que la angioplastia primaria, tiene la ventaja incuestionable de su fácil aplicabilidad y, por lo tanto, su disponibilidad para todos los pacientes con infarto agudo de miocardio, lo que motiva que la trombolisis no sea considerada como un tratamiento obsoleto del infarto si no todo lo contrario. A nuestros pacientes intentaremos ofrecerles lo más precozmente posible, la terapia de reperfusión más adecuada a la situación en que nos encontremos. Por lo tanto, la elección de la estrategia de reperfusión se basará en el medio en el que nos hallemos y en el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas. De esta forma, el paciente puede ser atendido inicialmente en un centro con una sala de hemodinámica disponible 24 horas al día, con personal cualificado para la realización de una angioplastia primaria o bien a centros alejados de una sala de hemodinámica, en los que la fibrinólisis cobra especial importancia.

Sea cual sea la estrategia de reperfusión utilizada el tamaño final de la necrosis depende directamente del tiempo que permanece ocluida la arteria responsable.⁴³ Los pacientes con infartos extensos presentarán un mayor deterioro tardío de la función ventricular que los pacientes con infartos pequeños. De esta forma, intentar limitar el tamaño del infarto se convierte inicialmente en el objetivo fundamental del tratamiento de reperfusión.

De la experimentación animal hemos aprendido que a mayor duración de la oclusión coronaria, mayor grado de necrosis, y por tanto mayor tamaño del infarto y peor función ventricular.⁴⁴ Estos hallazgos son trasladables al humano, y así desde los primeros ensayos clínicos con fibrinolítico, se ha confirmado que el diagnóstico y tratamiento precoz de los síndromes coronarios agudos con elevación del segmento ST disminuye el remodelado ventricular adverso y mejora la supervivencia. El estudio *GISSI I* mostró una reducción del 47 % de la mortalidad con el uso de estreptoquinasa intravenosa en los pacientes tratados en la primera hora frente a los que recibieron el fármaco entre las 2 y 6 horas.⁴⁵ En el estudio *CAPTIM* se comparó la fibrinólisis prehospitalaria con la angioplastia primaria.⁴⁶ En este estudio no se encontraron diferencias en la incidencia de muerte, reinfarto o accidente cerebrovascular a los 30 días, sin embargo sí hubo diferencias entre ambas estrategias en los pacientes aleatorizados antes de 2 horas desde el inicio de los síntomas. En estos pacientes la mortalidad a los 30 días era inferior con tratamiento fibrinolítico.

Cada minuto de retraso en el tratamiento de reperusión conlleva un empeoramiento de la función ventricular y un incremento en la mortalidad, tanto cuando la terapia utilizada es el tratamiento fibrinolítico,⁴⁷ como si la misma es la angioplastia primaria.⁴⁸ El riesgo de mortalidad anual se incrementa aproximadamente en un 7,5% por cada 30 minutos de retraso. Por lo tanto, resulta vital disminuir el tiempo entre el comienzo de los síntomas y el inicio de tratamiento.

La demora en el inicio del tratamiento de reperusión se debe fundamentalmente a los retrasos atribuibles al paciente, prehospitalarios e intrahospitalarios. Los esfuerzos destinados a reducir esta demora deben comenzar con la educación del paciente. El retraso atribuible al paciente es el más largo, casi dos tercios del tiempo total. Cualquier programa destinado a este fin probablemente aumentará el número de pacientes candidatos a recibir reperusión y disminuirá la incidencia de muerte súbita. Los retrasos prehospitalarios se pueden reducir con la puesta en marcha de un servicio de ambulancias óptimo que permita un traslado precoz e incluso la administración extrahospitalaria de fibrinolítico. Finalmente, un porcentaje importante de la pérdida de tiempo es el retraso intrahospitalario. El tiempo puerta-balón o puerta-fibrinólisis incluye el tiempo que se emplea en evaluar al paciente, elegir la terapia de reperusión y poner en marcha esta estrategia. En las guías de actuación clínica se recomienda un tiempo puerta-fibrinolítico de 15-30 minutos y un tiempo puerta-balón de 90-120 minutos.^{42,49} Sin embargo, en la práctica real este tiempo es muy superior,^{6-8,46,48,50-54} por lo que el esfuerzo debería trasladarse a adaptar las diferentes estrategias de reperusión a la organización y características sanitarias específicas de aquella región donde se aplican. En la Figura 2 se esquematizan las causas de la demora del inicio del tratamiento de reperusión.

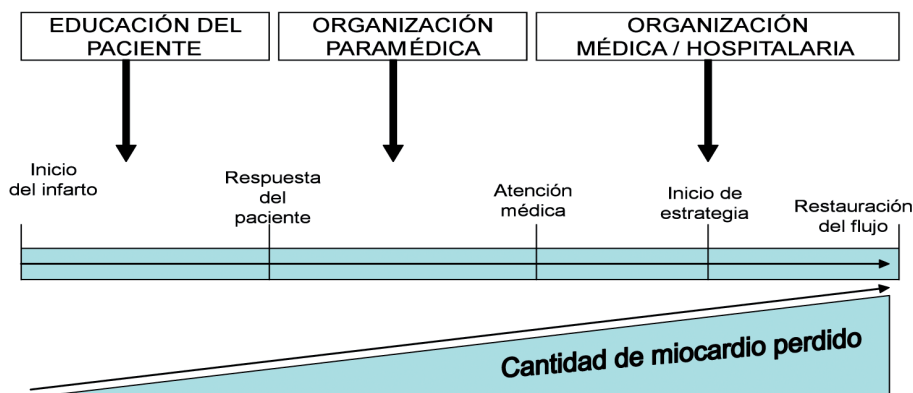


Figura 2. Tiempos en la evaluación y tratamiento del infarto.

Las posibles causas de demora desde la aparición de los síntomas hasta el comienzo de la terapia de reperfusión se debe a la demora del paciente, la demora del transporte y la demora del tratamiento. Las medidas para reducir el retraso total incluyen la educación del paciente, la optimización de los servicios de ambulancias y la organización interhospitalaria y de la organización hospitalaria.

La permeabilidad mantenida de la arteria responsable del infarto ejerce de igual modo un papel fundamental en el pronóstico de los pacientes y además afecta de forma negativa al remodelado ventricular adverso tanto en pacientes tratados con fibrinólisis,⁵⁵⁻⁵⁸ como de igual manera en pacientes tratados con angioplastia primaria.⁵⁹

Por tanto, restaurar y mantener la permeabilidad epicárdica y miocárdica de la arteria responsable del infarto en la fase precoz del mismo tiene un efecto evidente en la prevención y mejora del remodelado ventricular, siendo los objetivos fundamentales conseguir la aplicabilidad de las estrategias de reperfusión en la mayoría de víctimas con infarto en el menor tiempo posible.

2.2.1.2. Restauración tardía de la permeabilidad de la arteria responsable del infarto

Sin embargo, el beneficio que la revascularización tardía puede tener en el proceso de remodelado ventricular es controvertido. El metanálisis realizado por el grupo *FTT (Fibrinolytic Therapy Trialists' Collaborative Group)* con 45.000 pacientes con IAMSTE o bloqueo de rama izquierda de nueva aparición mostró que la reperfusión con trombolítico en las primeras 6 horas se asoció con una reducción en la mortalidad del 33% a 35 días del evento, en comparación con los tratados entre las 7 y 12 horas desde el inicio del dolor.⁴⁷ Igualmente, no detectaron beneficio en aquellos que recibieron el fibrinolítico a partir de las 12 horas del inicio del dolor. Los mecanismos de dicho beneficio son similares a la revascularización precoz: estabilidad eléc-

trica, menor tamaño de infarto, mejoría en la función ventricular y menor remodelado ventricular adverso. Estos hallazgos han sido analizados posteriormente en estudios clínicos que han evaluado objetivos surrogados. *Gil et al.*,⁶⁰ evaluaron la función ventricular en 103 pacientes aleatorizados a alteplasa o placebo entre 6 y 24 horas desde el inicio del dolor. La función ventricular se incrementó de forma significativa al mes de seguimiento pero no a los 6 meses. *Topol et al.*,⁶¹ no encontraron diferencias en la función ventricular en el estudio *TAMI-6* con 197 pacientes revascularizados de forma tardía, a pesar de que los volúmenes ventriculares no se incrementaban tanto como en el grupo no revascularizado. Otros estudios han mostrado resultados similares,⁶² disponiendo en la actualidad de un ensayo clínico aleatorizado con 2166 pacientes con infarto de miocardio (entre 3 y 28 días) y oclusión coronaria proximal o fracción de eyección inferior a 50%.⁶³ A los cuatro años de seguimiento no se observó diferencias en la supervivencia entre los pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo o los que continuaron con tratamiento médico (hazard ratio para mortalidad, reinfarto o insuficiencia cardíaca 1.16 [0.92 a 1.45]). Sin embargo, y a pesar del cuestionable beneficio clínico, la revascularización tardía en la práctica habitual es una práctica bastante común.

2.2.2. Tratamientos dirigidos a aumentar la resistencia del miocardio a la isquemia

De los pacientes con IAMSTE sometidos con éxito a terapéuticas de recanalización con fibrinolíticos o angioplastia primaria, aproximadamente la mitad de ellos permanecen con alteración del flujo sanguíneo en la microcirculación.⁶⁴ Para proteger a la célula del sufrimiento, se han investigado en humanos diferentes medicamentos, como coadyuvantes a las terapéuticas de recanalización. De una manera global, pueden ser divididos en aquellos que aumentan la tolerancia metabólica, y los que actúan sobre la respuesta inflamatoria desencadenada por el proceso de isquemia/reperfusión.⁶⁵

- las dirigidas a mejorar la tolerancia metabólica: entre ellas se encuentran los antagonistas de los canales de calcio, la solución glucosa-insulina-potasio, la adenosina y los inhibidores del sistema de intercambio sodio-hidrógeno.
- las dirigidas a amortiguar el daño inflamatorio: entre ellas se encuentran la utilización de compuestos anti-CD11/CD18, o anticomplemento.

Antagonistas de los canales de calcio

Al final de la cascada isquemia-necrosis, que se inicia a partir de la oclusión coronaria, el influjo de calcio hacia dentro de la célula isquémica acaba por desencadenar la necrosis de la misma.⁶⁶ Por tanto, si este influjo de calcio puede ser, al menos parcialmente, bloqueado con la utilización de los antagonistas de los canales de calcio, sería de esperar una protección, aunque temporal, con aumento del tiempo de viabilidad celular.⁶⁷ Los antagonistas del calcio disminuyen el consumo de oxígeno; aumentan el flujo sanguíneo coronario; disminuyen la agregabilidad plaquetaria intracoronaria; aumentan la preservación mitocondrial; disminuyen la activación de las hidrolasas intracelulares, en la producción de superóxido, y en la infiltración neutrofílica en la región infartada y; promueven el mantenimiento de la integridad de la membrana celular (sarcolema).⁶⁸⁻⁷⁰

Experimentalmente, el papel protector de este grupo farmacológico, especialmente del diltiazem, está bien demostrado disminuyendo su utilización el tamaño del infarto.⁷¹ Asimismo, el papel de diltiazem como coadyuvante de los fibrinolíticos ha sido analizado en seres humanos en dos ensayos clínicos: el estudio *CARES*⁷² (*Calcium Antagonist in Reperfusion Study*) y el estudio *DATA*⁷³ (*Diltiazem as Adjunctive Therapy to Activase*). Ambos estudios demostraron una mejoría en la función ventricular y una disminución significativa del área infartada a favor del grupo de diltiazem.

Solución glucosa-insulina-potasio

El concepto de protección metabólica del miocardio isquémico se basa en el hecho de que la glucosa ofrece un sustrato energético para la producción anaeróbica de adenosín trifosfato (ATP), lo que ocurre siempre que la célula se vuelve isquémica, comprometiendo la producción aeróbica de ATP por la mitocondria. Desde la publicación original de *Sodi-Pallares et al.*,⁷⁴ diversos autores han valorado esta solución. De todos ellos, cabe destacar el estudio de *Díaz et al.*,⁷⁵ analizando la utilidad de la solución glucosa-insulina-potasio en 407 pacientes con infarto agudo de miocardio de hasta 24 horas de evolución. De forma global se detectó un descenso en la mortalidad en los pacientes que utilizaron la solución de acuerdo con el protocolo. Sin embargo, es importante resaltar que los pacientes sometidos a terapéuticas de recanalización apenas obtuvieron beneficios, tal vez por esto su utilización no se ha generalizado.

Adenosina

Es un nucleótido endógeno liberado en cantidades sustanciales por el miocardio isquémico. Existen evidencias de que la adenosina reabastece de fosfatos de alta energía a células endoteliales y a los miocitos, inhibe la formación, actividad y acumulación de radicales libres, mejora la función microvascular y favorece el preacondicionamiento isquémico.⁷⁶ Con estos fundamentos, los efectos de la adenosina fueron determinados en dos estudios recientes: *AMISTAD (Acute Myocardial Infarction Study of Adenosine) I y II*.^{77,78} Ambos estudios, el segundo con análisis escalativo de dosis, mostraron una disminución en el tamaño del infarto a favor del grupo de adenosina.

Inhibidores del sistema de intercambio Na^+/H^+

De manera temprana, ante una situación de isquemia, los depósitos de fosfatos de alta energía son consumidos, la célula pasa a utilizar el metabolismo anaeróbico y la concentración intracelular de hidrogeniones (H^+) aumenta. Esta activación, en combinación con la reducida actividad de la bomba Na^+/K^+ dependiente de ATP, resulta en una acumulación de Na^+ dentro de la célula.⁷⁹ El aumento de Na^+ intracelular, a su vez, lleva a un aumento en la concentración de Ca^{+2} intracelular, vía intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ y, el aumento de Ca^{+2} intracelular acaba por causar muerte celular. Las alteraciones iónicas sobre una isquemia prolongada llegan a un estado de equilibrio, una vez que la acidificación del medio extracelular limita la velocidad de intercambio del sistema de intercambio Na^+/H^+ (SINaH). Por tanto, los inhibidores del SINaH, al prevenir la sobrecarga de Ca^{+2} intracelular, estarían protegiendo a la célula de los daños de la reperusión. Dos medicamentos de esta clase han sido evaluados en el infarto agudo de miocardio en humanos: cariporide y eniporide.^{80,81} Contrariamente a la mejoría en el remodelado ventricular observada con el primero, el estudio *ESCAMI (Evaluation of the Safety and Cardioprotective effects of eniporide in Acute Myocardial Infarction)* no mostró diferencias en la mejoría de parámetros ventricular ni eventos clínicos en un grupo mayor de pacientes.⁸¹

Antiinflamatorios

El infarto agudo de miocardio en humanos se asocia con inflamación, que a su vez es indicativa de peor pronóstico.⁸² En este sentido, la investigación ha sido orientada a bloquear este tipo de agresión.

Como primera opción investigada, la administración de antiinflamatorios no esteroideos y glucocorticoides durante la fase aguda del infarto en modelos ani-

males de experimentación, induce un remodelado precoz adverso con mayor expansión y menor grosor parietal en el área del infarto, al retrasar el proceso de cicatrización inicial y aumentar el tiempo en el que está sometida a estrés hemodinámico.⁸³⁻⁸⁸ A su vez, la relevancia clínica de este hecho en ensayos clínicos en humanos ha sido comprobada.⁸⁹ Como excepción, el ácido acetil-salicílico no induce estos efectos.⁸⁴

Más recientemente, en experimentos animales se demostró que la inhibición de la adhesión leucocitaria con anticuerpos contra la familia beta-2 de moléculas de adhesión leucocitaria resulta en disminución significativa del tamaño del infarto.⁹⁰⁻⁹³ Sin embargo, dichas observaciones no se han trasladado a la práctica clínica en los estudios *LIMIT AMI* y *HALT-MI*.^{94,95}

La patogenia de la lesión por isquemia/reperfusión también ha sido investigada en un modelo experimental, donde se observó que la terapia con anticuerpos anti-C5 inhibía significativamente la apoptosis, la necrosis y la infiltración de leucocitos polimorfonucleares.⁹⁶ Sin embargo, su utilización en humanos no se ha traducido en algún beneficio significativo.^{97,98}

Otras modalidades

Con independencia de que este área de investigación está despertando nuevamente el interés de la comunidad científica con la aplicación de nuevos fármacos,⁹⁹ caben destacar otras terapéuticas de protección como el enfriamiento miocárdico.¹⁰⁰ El enfriamiento preserva los cambios en el Ca^{+2} intracelular que se producen durante la isquemia/reperfusión conservando la contractilidad.¹⁰¹ Aunque el enfriamiento general no parece prevenir el remodelamiento ventricular,¹⁰² el enfriamiento limitado a la región del infarto podría representar una alternativa terapéutica.¹⁰³

2.2.3. Tratamientos farmacológicos de reducción de carga y evitación de la esferificación ventricular

Nitratos

Las propiedades farmacológicas de la nitroglicerina comenzaron a definirse a partir de su descubrimiento en 1847 por Ascanio Sobrero. Desde entonces personalidades como Alfred Nobel, Ferid Murad, Robert Furchgott, Salvador Moncada y Louis Ignarro entre otros, la han estudiado en profundidad.

Los nitratos tienen diferentes efectos farmacológicos que los hacen útiles en el tratamiento del infarto agudo de miocardio: dilatación del sistema venoso que lleva consigo descenso en la precarga ventricular, ligera vasodilatación arterial que lleva consigo un descenso en la postcarga y, vasodilatación selectiva del árbol coronario que lleva consigo a una mejora en la perfusión miocárdica.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Estas propiedades farmacológicas limitan el tamaño del infarto, mejoran la geometría ventricular y disminuyen la expansión postinfarto.¹⁰⁷ A nivel molecular, la nitroglicerina favorece la liberación de óxido nítrico, el cual relaja las células musculares lisas provocando vasodilatación.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Los beneficios clínicos son más evidentes ante la ausencia de hipotensión y menos evidentes si utilizamos vasoconstrictores, lo cuál indica que el efecto de los nitratos es realmente hemodinámico.^{111,112}

Aunque, en la era pretrombolítica el uso de nitratos redujo significativamente la mortalidad, este efecto beneficioso no se ha confirmado en la era de la reperfusión,¹¹³⁻¹¹⁵ limitándose sus efectos beneficiosos a su uso en las primeras horas del infarto.¹¹⁵

Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) y bloqueadores de los receptores de la angiotensina (ARA-II)

A nivel experimental, conocemos desde hace años, que los niveles de enzima convertidora de la angiotensina³³ se elevan en el tejido miocárdico dañado.¹¹⁶ Es más, la utilización de IECA previene el desarrollo de hipertrofia,¹¹⁷ fibrosis y,¹¹⁸ disfunción ventricular,¹¹⁹ disminuyendo las presiones de llenado ventricular izquierdo induciendo vasodilatación venosa y arterial.¹²⁰

A nivel clínico, los efectos beneficiosos observados a la hora de prevenir el remodelado ventricular adverso,^{18,121} se traducen en una disminución de la mortalidad. En el estudio *SAVE (Survival And Ventricular Enlargement Study)*,¹²² con 2,231 pacientes con infarto agudo de miocardio y disfunción ventricular izquierda (FEVI<40%) el uso de captopril se asoció a una disminución en el riesgo absoluto de mortalidad del 5% respecto al placebo tras 42 meses de seguimiento. Resultados parecidos (7% de reducción absoluta) se observaron con trandolapril en el estudio *TRACE (TRAndolapril Cardiac Elevation)*.¹²³ Los hallazgos de estos estudios iniciales han sido corroborados en estudios clínicos y metanálisis posteriores,¹²⁴⁻¹²⁶ desaconsejándose su administración intravenosa en el primer día del infarto al comprobarse en el estudio *CONSENSUS II (Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study)* un incremento en la mortalidad en el grupo tratado con enalaprilato, explicada por una alta incidencia de hipotensión (12%).¹²⁷

Los ARA-II son un grupo farmacológico más joven que los IECA, y por tanto requieren todavía estudios experimentales y clínicos que confirmen su teórico potencial como fármacos a prevenir el remodelado ventricular postinfarto de miocardio.¹²⁸ El hecho de bloquear selectivamente los receptores AT1 de la angiotensina-II puede atenuar el escape que se produce en el bloqueo del eje renina-angiotensina por los inhibidores de la ECA. Asimismo, resulta cada día más atractivo el hecho de que el bloqueo de los receptores AT1 activa los receptores AT2 cuya activación podría ayudar a prevenir el remodelado ventricular.¹²⁹ Por desgracia los estudios clínicos de antagonistas de la angiotensina tienen una gran desventaja respecto a los estudios iniciales con inhibidores de la ECA y es su dificultad teórica para mostrar beneficios clínicos en pacientes tratados de forma más completa tanto en lo referente a revascularización (angioplastia primaria) como en lo referente a farmacología (IECA, betabloqueantes, estatinas, antitrombóticos, etc). Hasta el momento dos grandes ensayos clínicos, el estudio *OPTIMAAL (Optimal Trial In Myocardial infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan)* y,¹³⁰ el estudio *VALIANT (VALsartan In Acute myocardial infarction Trial)*,¹³¹ han evaluado el papel de los antagonistas de la angiotensina en pacientes postinfarto, ninguno de ellos mostró mejoría tanto en la mortalidad como en la prevención del remodelado ventricular adverso del uso de antagonistas de los receptores de la angiotensina respecto a los IECA. Por todo ello, el uso de antagonistas de los receptores de angiotensina ha sido limitado a aquellos pacientes que presentan efectos secundarios con la toma de IECA, o combinados a los anteriores en pacientes con cifras tensionales de difícil control.

Antagonistas de la aldosterona

La aldosterona contribuye de forma importante en la homeostasis de volumen previniendo la pérdida de sodio y agua cuando es activada. Asimismo, tiene propiedades antiinflamatorias y reparadoras activando macrófagos y fibroblastos, induciendo la liberación de citocinas y la síntesis de colágeno en la cicatriz miocárdica.¹³²⁻¹³⁵ Se activa y actúa en coordinación con la angiotensina, por lo que los inhibidores de la ECA actúan frente a su mecanismo de acción. Sin embargo, hoy en día sabemos que esta actuación se atenúa en el tiempo.¹³⁶

Los antagonistas de la aldosterona conjuntamente con los inhibidores de la ECA fueron evaluados clínicamente en dos ensayos de gran tamaño: el estudio *RALES (Randomized Aldactone Evaluation Study)* y,¹³⁷ el estudio *EPHESUS (Eplerenone Post-AMI for Heart failure Efficacy and Survival Study)*.¹³⁸ En el estudio *RALES* la utilización de espironolactona disminuyó la mortalidad, en pacientes con insuficiencia cardiaca

muy sintomática con disfunción sistólica severa, en un 9% en términos absolutos.¹³⁷ Asimismo, varios subanálisis mostraron un beneficio evidente sobre el remodelado ventricular crónico mejorando los volúmenes ventriculares y fracción de eyección y,¹³⁹ disminuyendo el depósito de colágeno y fibrosis miocárdica.¹⁴⁰ Estos resultados fueron confirmados en el estudio *EPHESUS*, diseñado específicamente en postinfarto agudo de miocardio, donde la utilización de eplerenona disminuyó significativamente la mortalidad, en términos absolutos, en un 2.3%.¹³⁸ Más recientemente el estudio *EMPHASIS* demostró su utilidad también en pacientes con insuficiencia cardíaca ligera-moderada.¹⁴¹

Betabloqueantes

El beneficio de los betabloqueantes en la prevención del remodelamiento ventricular se explica por sus potenciales efectos beneficiosos, disminuyendo la demanda de oxígeno, postcarga y automatismo e incrementando la perfusión coronaria.¹⁴² Aunque los estudios iniciales mostraron una disminución en el remodelado ventricular y mortalidad,¹⁴³⁻¹⁴⁸ el primer estudio que analizó el efecto beneficioso de los betabloqueantes en pacientes tratados óptimamente con IECA fue el estudio *CAPRICORN (Carvedilol Post-infarct survival Controlled evaluation)*.¹⁴⁹ El estudio *CAPRICORN* aleatorizó 1.959 pacientes con infarto agudo de miocardio y disfunción ventricular (FEVI < 40%) a tratamiento con carvedilol o placebo. A los dos años de seguimiento la disminución en el riesgo absoluto de mortalidad en el tratamiento con carvedilol fue del 3%. De forma interesante, un subestudio ecocardiográfico con 127 pacientes mostró además que el carvedilol presentaba un efecto beneficioso a la hora de prevenir el remodelado ventricular añadido al uso de inhibidores de la ECA.¹⁵⁰ Curiosamente los efectos del carvedilol parecen extenderse a la modulación del proceso inflamatorio que se produce en el infarto.¹⁵¹ Finalmente, la titulación de betabloqueantes en el contexto del infarto debe realizarse de forma racional, tal y como evidenció el estudio *COMMIT (Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial)*, con objeto de evitar el shock cardiogénico.¹⁵²

Estatinas

El efecto pleiotrópico de los inhibidores de la hidroximetilglutaril-coenzima A reductasa está hoy en día claramente establecido. Sumado al efecto inhibidor de la síntesis endógena de colesterol, las estatinas estabilizan la disfunción endotelial, la placa coronaria, la formación de trombo, inhiben la respuesta inflamatoria y facilitan la producción de óxido nítrico.¹⁵³ Estos dos últimos efectos las hace especialmente atractivas como tratamiento en el remodelado ventricular. En este sentido, y a falta del desarrollo de estudios clínicos planeados con tal fin, los estudios experimentales invitan al optimismo.¹⁵⁴⁻¹⁵⁷

2.2.4. Técnicas quirúrgicas

Las técnicas de restricción quirúrgica envolviendo el miocardio con dispositivos que eviten su dilatación o incluso reduciendo el tamaño de la cavidad ventricular han sido también experimentadas como tratamiento del remodelado ventricular desfavorable. Un estudio aleatorizado utilizando una malla sintética (*CorCap™*) en pacientes con insuficiencia cardíaca sometidos a cirugía de la válvula mitral mostró una reducción en los volúmenes ventriculares.¹⁵⁸ En el escenario del infarto de miocardio existen resultados prometedores en animales utilizando estos dispositivos.^{159,160}

2.2.5. Resincronización cardíaca

La terapia de resincronización cardíaca, al disminuir el estrés parietal de la región infartada y peri-infarto, puede evitar el proceso de dilatación y remodelado ventricular.¹² Estudios preclínicos realizados en animales de gran tamaño demostraron que la estimulación ventricular reduce el estrés sistólico de las fibras musculares sin disminuir la función ventricular realizando así menos trabajo y siendo sometidas a menor estrés.^{161,162} De esta manera la resincronización o estimulación cardíaca puede usarse en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica para disminuir la precarga ventricular y atenuar el remodelado crónico,¹⁶³ aunque todavía no disponemos de resultados definitivos sobre su utilización en pacientes con infarto agudo de miocardio.¹⁶⁴

2.2.6. Reparación cardíaca con células madre adultas

2.2.6.1. Retos biológicos y clínicos en la terapia celular tras un infarto agudo de miocardio

En los países desarrollados el 50% de los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen antecedentes de infarto de miocardio. Se calcula que en los próximos 10 años el número de pacientes con insuficiencia cardíaca crecerá sustancialmente, y probablemente será debido a la cardiopatía isquémica. Aunque es posible que la mayor utilización de estrategias farmacológicas (IECA, ARA-II, betabloqueantes, antialdosterónicos, estatinas, ivabradina) o mecánicas (apertura sistemática de la arteria responsable del infarto, resincronización cardíaca) pueda contribuir a prevenir el desarrollo de insuficiencia cardíaca, no se esperan nuevos avances de gran entidad en este sentido. Quizás por ello, el esfuerzo intelectual y económico para luchar contra este síndrome

comienza a enfocarse en intentar evitar el desarrollo de remodelado ventricular post-infarto, disminuyendo cuantitativamente la muerte celular, contribuyendo a la reparación del tejido isquémico y/o sustituyendo el tejido necrótico por otro normal.

2.2.6.2. El corazón tiene capacidad intrínseca de regeneración

Recientemente se ha demostrado que, en contra del pensamiento clásico, el miocardio humano destruido o lesionado puede regenerarse a partir de células madre. Se sabe, en concreto, que después de un infarto de miocardio se produce un proceso de regeneración que tiende a sustituir la zona necrosada.¹⁶⁵ Sin embargo, la capacidad de este fenómeno de regeneración, dirigida fundamentalmente al recambio de células perdidas en el proceso de envejecimiento tisular,¹⁶⁶ es limitada e insuficiente para suplir al miocardio destruido en el infarto de una forma funcionalmente adecuada.

Hay evidencias recientes que sugieren la existencia de células madre residentes en el miocardio cuya estimulación podría incrementar la regeneración postinfarto. Sin embargo, el mayor cuerpo de evidencia en este sentido indica que la pobre capacidad de regeneración natural que tiene el corazón puede ser estimulada mediante diferentes tipos de células progenitoras extracardíacas.¹⁶⁷ En estudios experimentales se ha demostrado que cuando se produce un infarto agudo de miocardio se desencadena un fenómeno de movilización de células procedentes de la médula ósea, que son atraídas por factores quimiotácticos hacia el tejido necrótico, colaborando con las células residentes en la reparación del mismo.¹⁶⁸⁻¹⁷¹

2.2.6.3. Bases de la terapia con células madre aplicada al miocardio

La utilización de células pluripotenciales para sustituir el tejido miocárdico destruido se conoce como cardiomiogénesis y, se considera como una terapia que potencialmente podría evitar el desarrollo de remodelado adverso e insuficiencia cardíaca postinfarto. Esta terapia celular ya está siendo utilizada para el tratamiento de enfermedades degenerativas. Lo que se persigue es la sustitución de tejidos lesionados o degenerados por células pluri o totipotenciales, que en condiciones específicas puedan diferenciarse hacia un tipo determinado de célula adulta y suplir las carencias fisiológicas del órgano lesionado.

La utilización de células totipotenciales de origen embrionario implica la destrucción de embriones o la creación de los mismos con fines exclusivamente terapéuticos, lo que conlleva problemas éticos no resueltos, a lo cual se suma el potencial rechazo

inmunológico. Ambos problemas podrían resolverse mediante la utilización de células somáticas autólogas reprogramadas para inducir su pluripotencialidad (*iPS cells*, *induced-Pluripotent Stem Cells*), sintetizadas mediante la adición de un “cóctel” de factores,^{172,173} y su utilización en modelos experimentales de infarto de miocardio ya se ha llevado a cabo.¹⁷⁴ Sin embargo, la excesiva plasticidad de ambos tipos de células (embrionarias y somáticas reprogramadas) plantea aún, por otra parte, dudas respecto del riesgo de crecimientos imperfectos (tumorigénesis).¹⁷⁵

Las células autólogas en estadios intermedios de diferenciación no plantean los problemas anteriormente descritos y, han demostrado tener plasticidad suficiente para regenerar eficazmente diversos tipos de tejidos. El trasplante de este tipo de células en un órgano o tejido destruido condiciona la aparición de señales que ponen en marcha su diferenciación específica y acaba desembocando en una regeneración estructural y funcional. Estas células madre pueden obtenerse fácilmente de la médula ósea, músculo estriado o tejido adiposo entre otros y, tras determinados procedimientos de purificación y/o selección, se implantan en el tejido miocárdico dañado por un infarto diferenciándose teóricamente a células miocárdicas adultas, o estimulando las células madre cardíacas residentes con el objetivo final de recuperar la función contráctil del miocardio.¹⁷⁶

Existen estudios preclínicos indicativos de que después de producirse un infarto, el trasplante intramiocárdico de células progenitoras derivadas de médula ósea resulta en una regeneración de todos los elementos de la estructura miocárdica, que es funcionalmente eficaz.¹⁷⁷ Este mismo efecto se ha observado utilizando células madre de otros orígenes o cuando en lugar de transplantar las células se administran factores que estimulan la producción de progenitores por parte de la médula ósea y su salida al torrente circulatorio (“movilización”), lo que da lugar al anidamiento selectivo de dichos progenitores en la zona necrótica del corazón, con marcada multiplicación intramiocárdica, regeneración de los diferentes componentes del tejido cardíaco y beneficio en términos de reducción en el tamaño del infarto, recuperación del espesor parietal y volúmenes ventriculares.¹⁷⁷ Sin embargo, dichos hallazgos no han podido ser reproducidos por todos los grupos.^{178,179}

Estos datos, junto con la necesidad perentoria de encontrar métodos que permitan prevenir la insuficiencia cardíaca postinfarto, propiciaron la realización de varios estudios piloto en humanos sobre la seguridad y factibilidad del trasplante de diversos tipos de células madre. Los dos tipos más utilizados hasta la fecha son los mioblastos o células madre satélites del músculo esquelético, y las células madre procedentes de la médula ósea.¹⁸⁰

2.2.6.4. Papel de los progenitores de médula ósea en la regeneración miocárdica

Los diversos linajes de células progenitoras de la médula ósea que se trasplantan en el corazón parecen integrarse en el tejido miocárdico infartado y regenerar todos sus elementos, lo que se traduce en una clara mejoría estructural y funcional. En modelos experimentales, las células procedentes de médula ósea implantadas en el miocardio infartado indujeron miogénesis y angiogénesis y, mejoraron la función cardíaca y la supervivencia en animales pequeños y grandes.¹⁸¹

La aplicación de estos elementos puede hacerse mediante inyección intramiocárdica (por vía quirúrgica o métodos percutáneos), infusión venosa, infusión intracoronaria, o a través de la movilización de la médula ósea con factores de estimulación, lo que permite su empleo en la fase aguda del infarto sin necesidad de recurrir a las técnicas de cirugía cardíaca mayor (Figura 3).

Movilización con factores de crecimiento



Trasplante de células madre autólogas

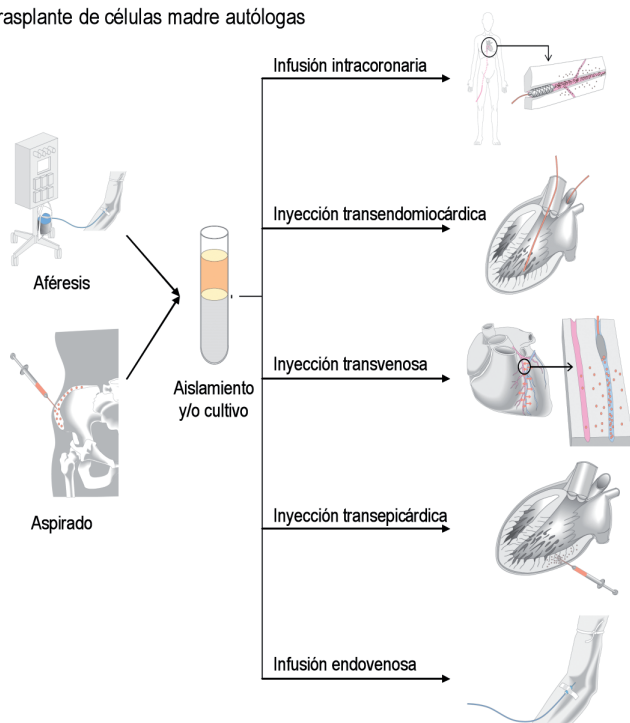


Figura 3. Métodos de movilización y trasplante con progenitores celulares derivados de médula ósea empleados en terapia celular miocárdica.

El interés en el uso de dichos progenitores como coadyudantes de la terapia de reperfusión del infarto ha crecido de forma drástica después de comprobar que el infarto agudo de miocardio induce la producción y movilización de células madre hematopoyéticas por parte de la médula ósea.¹⁶⁸⁻¹⁷¹ Dicha proliferación y movilización de células progenitoras puede ser potenciada artificialmente mediante la utilización de factores de crecimiento. En concreto, el producto más investigado es el factor de crecimiento de colonias de granulocitos (*G-CSF*, *Granulocyte-Colony Stimulating Factor*), que se utiliza desde hace tiempo con enorme eficacia en diversas enfermedades hematológicas para la recuperación de neutropenias severas, especialmente aquellas prolongadas tras tratamientos mieloablativos. Los diferentes estudios publicados han mostrado que la administración subcutánea de G-CSF en el infarto reciente reperfundido es segura y bien tolerada.¹⁸² Los datos disponibles con esta terapia y con la inyección intracoronaria de progenitores celulares concuerdan en la demostración de que este tratamiento deriva por lo general en un beneficio estructural aunque no siempre funcional.¹⁸³

Todo ello sugiere que podría limitarse el remodelado ventricular adverso postinfarto mediante la aplicación muy precoz de terapia celular con progenitores de origen en la médula ósea. Asimismo, varios estudios sobre la eficacia de la aplicación de células madre en pacientes con IAMSTE coinciden en la observación de que el beneficio observado en la evolución favorable del tamaño y la función del ventrículo izquierdo está ligado a una normalización de la perfusión miocárdica,¹⁸⁴ lo que sugiere un efecto beneficioso de la terapia celular debido, al menos en parte, a neoangiogénesis microvascular.^{185,186}

2.2.6.5. Primeros ensayos clínicos sobre terapia celular postinfarto agudo de miocardio

La evidencia en animales de que las células madre pueden reconstituir el miocardio necrótico y mejorar la función cardíaca, incluso en ausencia de datos inequívocos de regeneración tisular, ha conducido al inicio de estudios clínicos que se han centrado en evaluar la factibilidad y seguridad de la terapia. En su mayor parte estos estudios se han realizado en pacientes con infarto agudo de miocardio, aunque otro grupo importante de estudios se ha llevado a cabo en pacientes con cardiopatía isquémica crónica. Las principales diferencias entre estos estudios son el tipo de células utilizadas, el procesado celular, la forma de administración y el modo de medir su eficacia.¹⁷⁶

Los ensayos llevados a cabo en pacientes con infarto agudo de miocardio, se han realizado siempre tras la permeabilización de la arteria culpable. Todos los ensayos son de fase I y II, analizando la seguridad y factibilidad de distintas estrategias para la reparación

cardíaca, y su eficacia en la prevención del remodelado ventricular basada en el efecto observado sobre objetivos blandos o sustitutos (*subrogate endpoints*). Las estrategias utilizadas en este tipo de pacientes han sido básicamente dos, en ocasiones de forma combinada; por un lado la administración intracoronaria de células madre^{184,186-219} y, por otra parte, la movilización de progenitores hematopoyéticos de médula ósea con factores de estimulación (G-CSF^{195,196,202,209-211,214,220-232} y GM-CSF²³³). Los tipos celulares autólogos, utilizados para su administración intracoronaria, han sido células mononucleares de médula ósea no seleccionadas,^{184,186-190,192-194,197-199,201,203-219} células madre mesenquimales de médula ósea autóloga expandidas en cultivo,^{191,200} células progenitoras circulantes derivadas de médula ósea y obtenidas por aféresis,^{186,189,190,195,196,202,209,211,214} células progenitoras endoteliales,^{191,200} y subpoblaciones seleccionadas de células progenitoras de médula ósea (CD 133+ ó CD34+CXCR4+).^{199,217} La movilización de células progenitoras de médula ósea mediante la administración de G-CSF, además de haberse aplicado como terapia única se ha utilizado en combinación con la aféresis para la posterior administración intracoronaria del producto celular en algunos casos.^{195,196,202,209,211,214}

En cuanto al diseño de los estudios de terapia celular realizados en pacientes con infarto agudo de miocardio (ver Tabla 1), fueron en un principio ensayos piloto fundamentalmente no aleatorizados, y enfocados en analizar el perfil de seguridad del tratamiento a corto plazo. Sin embargo, son ya cuantitativamente superiores en cuanto al número de pacientes tratados aquellos estudios aleatorizados con grupo control, tanto entre los que evalúan la movilización celular con G-CSF aislada,^{195,196,210,222-224,226-232} como entre los que evaluaron la inyección intracoronaria de progenitores con o sin movilización previa.^{184,191,195-197,201-208,210-213,215-217,219,234} No obstante, los ensayos doble ciego con administración de placebo al grupo control son aún la excepción,^{184,201,206-208,216,226-230,233} especialmente si la obtención de las células se realizó por extracción directa de médula ósea, dado el carácter cruento del procedimiento.^{184,201,206-208,216}

En cuanto a los resultados, mientras que la mayoría de los estudios realizados con infusión intracoronaria de células madre han encontrado algún beneficio con el uso de la terapia celular tras un infarto agudo de miocardio, en el caso del tratamiento con G-CSF los resultados son menos homogéneos y esperanzadores. Independientemente del tipo de célula utilizado, los resultados muestran mejoría en la evolución de diferentes parámetros analizados como la fracción de eyección del ventrículo izquierdo,^{186,189,191,194-197,199,201,202,206-213,216,218,219,222,223,232,233} la perfusión del área infartada o periinfarto,^{184,186-189,191,195,196,199-201,220-223,229} la contractilidad del área infartada o periinfarto,^{184,186-189,191,193,194,197,199,200,206,209-213,218-223,225,235} o los volúmenes ventriculares.^{186,189,191,193-196,199,201,202,210,212,213,218,219,222,223,232}

La prueba final de la eficacia de la terapia celular, en el infarto agudo de miocardio, será la demostración de que este tratamiento reduce la mortalidad y la incidencia de insuficiencia cardiaca. Esto requiere la realización de ensayos clínicos a gran escala que permitan analizar objetivos clínicos a diferencia de los que se han desarrollado hasta ahora, aunque en este momento la pertinencia de iniciar este tipo de ensayos es discutible.

En la Tabla 1 se resumen los principales estudios clínicos publicados en pacientes con infarto agudo de miocardio.

Tabla 1. Ensayos clínicos con terapia celular para la prevención del remodelado ventricular tras un infarto agudo de miocardio.

Autor	Diseño* y grupos (n)	Dosis	FEVI-b % †	Timing ‡	F-U ¶	Resultados
Strauer ^{187,188}	Fase I CMNMOA ic. (10) Control NA (10)	2.8±2.2 ×107 No placebo	57±8 60±7	5-9	3	Grupo tratado: ↓ tamaño y ↑ contractilidad área del infarto.
Assmus, ¹⁸⁶ Schachinger, 189,190 y Leistner ²³⁶	Fase I CMNMOA ic. (29) CPC ic. (30) Control NA (11)	1.6±1.2 ×107 21.3±7.5 ×107 No placebo	51±10 49±10 51±10	5±2	4, 12, 60	Grupos tratados: ↑ FEVI, ↓ VTS y tamaño del infarto, mejoría función microvascular y contractilidad regional.
Chen ¹⁹¹	Fase II MSC ic. (34) Control A (35)	4800–6000 ×107 Suero salino	49±9 48±10	18	6	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↓ VTS y VTD, ↑ perfusión y contractilidad área del infarto.
Kueth ¹⁹²	Fase I CMNMOA ic. (5)	3.9±2.3 ×107	42±8	6	12	No cambios en FEVI ni contractilidad área del infarto
Fernández-Avilés ^{193,194}	Fase I CMNMOA ic. (20) Control NA (13)	7.8±4.1 ×107 No placebo	51±7 50±7	14±6	6	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↓ VTS, ↑ contractilidad y grosor del área del infarto.
Wollert ¹⁹⁷ y Meyer ²³⁴	Fase II CNMOA ic. (30) Control A (30)	246±94 ×107 No placebo	50±10 51±9	6±1	18	Grupo tratado: acelera recuperación de la FEVI y contractilidad segmentaria (6 meses), no diferencia a largo plazo (18 meses).
Bartunek ¹⁹⁹	Fase I CD133+ ic. (19) Control NA (16)	1.3±0.2 ×107 No placebo	45±3 44±3	12±1	4	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↓ VTS, ↑ perfusión y contractilidad área del infarto.
Katritsis ²⁰⁰	Fase I MSC +EPC ic. (6) Control NA (11)	0.2-0.4 ×107** No placebo	40±9 42±11	<30	4	Pacientes con IAM del grupo tratado: ↑ contractilidad regional, viabilidad e isquemia reversible.
Ge ²⁰¹	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (10) Control A (10)	4 ×107 Placebo	54±9 58±8	≤1	6	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↑ perfusión del área del infarto. Previene remodelado ventricular.
Janssens ¹⁸⁴	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (33) Control A (34)	17.2±7.2 ×107 Placebo	49±7 47±8	2	4	Grupo tratado: ↑ perfusión y contractilidad área del infarto.
Lunde ^{203,204} y Beitnes ²⁰⁵	Fase II CMNMOA ic. (50) Control A (50)	8.7±4.7 ×107 No placebo	55±14 54±12	5-8	6, 12, 36	No diferencias entre grupos en ΔFEVI y volúmenes.
Schächinger ^{206,207} y Assmus ²⁰⁸	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (101) Control A (103)	23.6±17.4 ×107 Placebo	48±9 47±10	3-6	4, 12 24	Grupo tratado: ↑ FEVI y contractilidad área del infarto, beneficio clínico.

Autor	Diseño* y grupos (n)	Dosis	FEVI-b % †	Timing ‡	F-U ¶	Resultados
Yousef ²¹⁸	Fase II CMNMOA ic. (62) Control NA (62)	6.1±3.9 ×107 No placebo	52±11 57±10	7±2	3, 12 55	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↓ VTS y VTD y ↑ contractilidad área del infarto, mejora estabilidad eléctrica.
Tendera ²¹⁷	Fase II CD34+CXCR4+ (80) CMNMOA ic. (80) Control A (40 p.)	0.2 ×107 17.8 ×107 No placebo	35 (12-45) 37 (19-44) 39 (23-44)	3-12	6	No diferencias en ΔFEVI y volúmenes entre grupos.
Meluzin ^{212,213}	Fase II CMNMOA (22) CMNMOA (22) Control A (22)	108 107 No placebo	40±2 41±2 40±2	5-9	3, 6, 12	Grupo tratado dosis alta: ↑ FEVI, ↓ VTS y ↑ contractilidad área del infarto a 3 meses, persiste beneficio en FEVI a los 12 meses.
Penicka ²¹⁵	Fase II CMNMOA ic. (17) Control A (10)	264 ×107 No placebo	38±7 39±4	4-11	4	No diferencias en ΔFEVI y tamaño del infarto entre grupos.
Huikuri ²¹⁶	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (40) Control A (40)	40.2±19.6 ×107 Placebo	59±11 62±12	(2-6)	6	Grupo tratado: ↑ FEVI.
Cao ²¹⁹	Fase II CMNMOA ic. (41) Control A (45)	50±12 ×107 No placebo	41±3 41±3	7	6, 12, 48	Grupo tratado: ↑ FEVI, ↓ VTS y mejora índice de contractilidad segmentaria que persiste a los 4 años.
Kueth ^{220,221}	Fase I G-CSF (14) Control NA (9)	10 µg/Kg/d No placebo	40±11 40±13	2 (7 días)	3	Grupo tratado: ↑ perfusión y contractilidad área del infarto.
Valgimigli ²²⁴	Fase I, simple ciego G-CSF sc. (10) Control A (10)	5 µg/Kg/d Placebo	ND ND	2±3 (4 días)	6	No diferencias significativas en ΔFEVI y volúmenes entre grupos.
Suárez de Lezo ²²⁵	Fase I G-CSF sc. (13)	10 µg/Kg/d	40±7	5 (10 días)	3	↑ Contractilidad área del infarto.
Ince ^{222,223}	Fase II G-CSF sc. (25) Control A (25)	10 µg/Kg/d No placebo	48±4 47±5	<1 (6 días)	4, 12	Grupo G-CSF: ↑ FEVI, perfusión, grosor y contractilidad área del infarto, previene remodelado.
Jorgensen ²²⁶ y Ripa ²²⁷	Fase II, doble ciego G-CSF sc. (39) Control A (39)	10 µg/Kg/d Placebo	51±15 56±10	1-2 (6 días)	6	No diferencias en ΔFEVI, volúmenes, masa ventricular, grosor del área del infarto ni desarrollo de hiperplasia neointimal entre grupos.
Zohnhöfer ²²⁸	Fase II, doble ciego G-CSF sc. (56) Control A (58)	10 µg/Kg/d Placebo	51±8 49±9	5 (5 días)	4, 6	No diferencias en FEVI, volúmenes y perfusión entre grupos.
Engelmann ²²⁹	Fase II, doble ciego G-CSF sc. (23) Control A (21)	10 µg/Kg/d Placebo	41±12 44±9	0-7 (5 días)	3	Grupo G-CSF: ↑ perfusión en área del infarto al mes. No diferencias en FEVI y volúmenes entre grupos.
Ellis ²³⁰	Fase II, doble ciego G-CSF 10 µg/Kg/d (6) G-CSF 5 µg/Kg/d (6) Control A (6)	10 µg/Kg/d 5 µg/Kg/d Placebo	37±8 42±8 34±2	<2 (5 días)	1	No diferencias en FEVI, volúmenes, contractilidad y grosor del área del infarto entre grupos.
Deng ²³³	Fase II, doble ciego GM-CSF sc. (10) Control A (10)	10 µg/Kg/d Placebo	54±7 52±8	1 (7 días)	12	Grupo tratado: ↑ FEVI.
Takano ²³¹	Fase I, simple ciego G-CSF sc. (18) Control A (22)	2.5 µg/Kg/d Placebo	47±11 46±10	1 (5 días)	6	No diferencias en ΔFEVI, volúmenes, perfusión y reestenosis entre grupos.
Leone ²³²	Fase I, simple ciego G-CSF sc. (14) Control A (27)	10 µg/Kg/d Placebo	40±6 38±6	≥5 (5 días)	4-6	Grupo tratado: ↑ FEVI y previene dilatación (ΔVTD).
Choi ²¹⁴	Fase I G-CSF sc. + CPC ic. (10) NR control (63)	600 µg/d, 203±69 ×107 No placebo	38±9 42±7	<14 (G-CSF 4 días)	6	No diferencias en ΔFEVI, volúmenes y tamaño del infarto entre grupos.

Autor	Diseño* y grupos (n)	Dosis	FEVI-b % †	Timing ‡	F-U ¶	Resultados
Suárez de Lezo ²¹⁰	Fase II CMNMOA ic. (10) G-CSF sc. (10) Control A (10)	90±30 ×107 10 µg/Kg/d No placebo	37±5 39±5 38±6	7±2 5 (10 días)	3	Grupo tratado con CMNMOA ic.: † FEVI, ‡ VTD y VTS y † contractilidad área del infarto y reserva contráctil.
Kang ^{195,196}	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (7) G-CSF sc. (3) Control A (2)	10 µg/Kg/d CPC: 100 ×107 No placebo	49±9 45±14 40±9	4-6 (G-CSF 4 días) ††	6, 24	Grupo de tratamiento combinado: † FEVI, ‡ VTD, † perfusión del área del infarto, † capacidad funcional.
Kang ²⁰²	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (25) R control (25)	10 µg/Kg/d CPC >0.7 ×107 No placebo	52±10 53±13	7±1 (G-CSF 3 días)	6	Pacientes con IAM del grupo tratado: † FEVI, ‡ VTS.
Steinwender ²⁰⁹	Fase I G-CSF sc. + ic. CPC (20)	10 µg/Kg/d, 480±160×107 ×107CPC	46±8	6-8 (GCSF 5 días)	6	† FEVI y contractilidad regional.
Li ²¹¹	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (35) Control A (35)	300-600 µg/d, dosis ND** No placebo	50±8 51±8	6-12 (G-CSF 5 días)	6	Grupo tratado: † FEVI y mejora índice de contractilidad segmentaria.

Valores expresados como media ± desviación estándar o rango si disponible. FEVI-b indica fracción de eyección ventricular izquierda basal; F-U, seguimiento (*follow-up*); CMNMOA, células mononucleadas de médula ósea autóloga; CNMOA, células nucleadas de médula ósea autóloga; G-CSF, factor estimulador de colonias granulocíticas; GM-CSF, factor estimulador de colonias granulocíticas y macrófagos; Control A y NA, control aleatorizado y no aleatorizado respectivamente; CPC, células progenitoras circulares; VTS, volumen telesistólico; VTD, volumen telediastólico; MSC, células mesenquimales de médula ósea autóloga (*mesenchymal stem cells*); IAM, infarto agudo de miocardio; ND, información no disponible.

*Todos los estudios son abiertos excepto aquellos en los que se indique otro diseño (p.ej. doble ciego). †La FEVI basal fue calculada o medida mediante ventriculografía con contraste,^{186-189,191,192,199,206,209,210,216,218,222,223,225} ecocardiografía bidimensional,^{200,201,203-205,211,214-216,219,222,223,227,230,232,233} ventriculografía isotópica,^{200,220,221} resonancia magnética cardíaca^{184,194,197,202,203,205,214,217,227-229,234} y/o gated-SPECT miocárdico^{195,196,203,212,224,231}. ‡Días desde el infarto hasta el tratamiento (inyección de células o G-CSF/GM-CSF), y entre paréntesis la duración del tratamiento con factores. ¶Meses hasta el seguimiento por imagen. **Incluye células mesenquimales (66±19%) y progenitoras endoteliales (28±11%). ††Único estudio con G-CSF previo al intervencionismo percutáneo. ‡Nº de células CD34+ (7.2±7.3 ×10⁷).

2.2.6.6. Metanálisis de ensayos clínicos con administración intracoronaria de células madre derivadas de médula ósea postinfarto agudo de miocardio

La prodigalidad de ensayos clínicos, en su inmensa mayoría de pequeño tamaño muestral (ver Tabla 1), ha dado lugar a la realización de metanálisis cuyo resultado avale o justifique la realización de nuevos ensayos clínicos en fase III, ya dirigidos a analizar el impacto de la terapia celular postinfarto sobre objetivos clínicos (p.ej.: morbimortalidad).

Hasta el momento, se han publicado 8 metanálisis de ensayos con administración intracoronaria de progenitores de médula ósea, cada uno de ellos con sus particularidades, pero en general con un resultado consistente en cuanto al beneficio esperable.²³⁷⁻²⁴⁴ Todos presentan, como carencias inevitables, cierta heterogeneidad en el diseño y la metodología de los estudios incluidos, y un posible sesgo de publicación de estos. La heterogeneidad de dichos estudios viene derivada de la amplia variabilidad de su diseño (estudios de cohortes o ensayos aleatorizados simple o doble ciego con

placebo), las características clínicas de los participantes, el tamaño y tipo de infarto al ingreso, el tiempo desde el infarto hasta la administración de las células, el tipo de células utilizado, la metodología para la obtención y el procesamiento de las células, la valoración de la capacidad funcional del producto celular administrado, el tratamiento estándar recibido (p.ej. angioplastia primaria o trombólisis preangioplastia), la extensión y localización de la enfermedad coronaria de los pacientes, la presencia y constatación del aturdimiento miocárdico (estudios de viabilidad preterapia celular), la función ventricular basal, el número ó dosis de células administrado, los tratamientos coadyuvantes (p.ej. movilización con G-CSF), el medio administrado como placebo al grupo control en su caso, los tiempos de seguimiento en los estudios de imagen, el tipo de estudio de imagen para valoración de parámetros objetivo, o el tiempo de seguimiento clínico. Por último, en ningún caso se entra a fondo en una discusión sobre el mecanismo de acción de la terapia, aún en debate y conocido en una mínima parte.

Abdel-Latif et al. publicaron en 2007 el primero de ellos, incluyendo 999 pacientes tratados en 18 estudios (12 randomizados y 6 de cohortes).²³⁷ La muestra de estudios seleccionados es excesivamente heterogénea, pues de un modo excepcional incluye estudios no aleatorizados, pacientes con cardiopatía isquémica aguda y crónica, y diferentes vías de administración celular (intracoronaria o intramiocárdica) con o sin movilización previa con factores de estimulación. Tan solo el 50% de los estudios randomizados tenían diseño doble ciego con placebo, y la metodología en cada ensayo varía de forma considerable (p.ej.: el tiempo desde el infarto hasta la inyección celular). Pese a ello, sus resultados han sido posteriormente corroborados en nuevos metaanálisis con pacientes, células, tiempos y modos de administración de las células más homogéneos. En términos generales, la administración intracoronaria de células madre adultas derivadas de médula ósea induce beneficios modestos en parámetros anatómicos y fisiológicos en pacientes con infarto agudo de miocardio (incremento de la FEVI, y reducción del tamaño del infarto y del volumen telesistólico) que se sumarían a los derivados del tratamiento estándar (revascularización y terapia farmacológica).

También en 2007 *Lipinski et al* comunicaron sus resultados, seleccionando 10 ensayos clínicos con 698 pacientes tratados con infarto reciente (<14 días), aunque incluyendo estudios con administración de células derivadas de médula ósea obtenidas por punción directa de ésta o por aféresis de sangre periférica con movilización previa con G-CSF.²³⁸ Ratifican el beneficio modesto en el grupo tratado en la evolución de la FEVI, volumen telesistólico y tamaño del infarto, así como en la incidencia de reinfarto y otros parámetros clínicos, sugiriendo una posible asociación dosis-respuesta.

Posteriormente *Martin-Rendon et al.* seleccionaron para su metanálisis sólo a pacientes con infarto agudo de miocardio (811), aunque se incluían aquellos estudios randomizados con uso de G-CSF previo.²³⁹ Con resultados similares al previo, destaca el subanálisis en relación con la potencial interacción de la dosis administrada (mejor en n° superior a 100×10^6 células), y del tiempo desde el infarto hasta la administración de las células (menor beneficio en tiempos cortos), ésta última corroborada en un metanálisis reciente de *Zhang et al* enfocado al “*timing*” de la terapia,²⁴⁰ y que apoya los resultados del análisis preespecificado realizado en el estudio *REPAIR-AMI*.²⁰⁶ Asimismo, el grupo de Martin-Rendon desarrolla su metanálisis con mucho mayor detalle en una publicación de la *Cochrane Library*, y elabora una magnífica evaluación tanto de los resultados sobre parámetros subrogados como del riesgo de sucesos adversos a corto plazo.²⁴¹ Como en el resto de metanálisis, la ausencia de un número suficiente de eventos adversos (p.ej.: mortalidad) en los ensayos analizados impide por una parte extraer conclusiones sólidas sobre un potencial beneficio clínico, e indica por otra el relativo buen pronóstico de los pacientes incluidos en dichos estudios (criterios de inclusión muy estrictos y/o un posible sesgo de selección en algunos casos) y la falta de rigor en algunas publicaciones al no informar sobre la evolución clínica.

También en 2008, el grupo de *Zhang* realizó un metanálisis que aporta como valor añadido sobre los anteriores su menor heterogeneidad, al incluir sólo estudios aleatorizados con pacientes sometidos a administración intracoronaria postinfarto de células sin movilización previa con factores.²⁴² Los resultados en términos de incremento de FEVI se mantienen, aunque no los beneficios en prevención del remodelado (reducción de volúmenes ventriculares). De especial relevancia es la consistencia del beneficio global de la terapia detectado en su subanálisis una vez excluido el estudio de *Chen et al*,¹⁹¹ particularmente diferente al resto de ensayos por el tipo y dosis de células administrado (mesenquimales de médula ósea en factor $\times 100$ -1.000 respecto al resto), el tiempo desde el infarto hasta la administración (≈ 18 días, 8 desde el infarto a la extracción más 10 de cultivo *ex vivo*), y el resultado cuantitativamente superior que presentó (incremento absoluto de FEVI a los 3 meses del 18% respecto al valor basal y del 13% respecto al grupo control). Un nuevo metanálisis más reciente, realizado por *Singh et al* y centrado en el beneficio sobre la FEVI postinfarto a corto plazo, apoya estos hallazgos con un grupo de estudios de similar heterogeneidad.²⁴³

Por último, *Kang et al* realizaron el metanálisis con criterios de selección de estudios más estricto y comparativamente similar al de esta tesis, incluyendo sólo aquellos ensayos clínicos aleatorizados publicados antes de 2008, en los que el grupo tratado recibió inyección intracoronaria de células mononucleadas/nucleadas obtenidas por

extracción directa de médula ósea, sin movilización con factores ni selección celular ulterior.²⁴⁴ Con hallazgos similares a los previos, resaltan la posibilidad de una interacción o efecto dosis-dependiente, ya sugerido en el estudio de Meluzin et al.^{212,213}

2.2.6.7. Metanálisis de ensayos clínicos con movilización celular con administración de Factor Estimulante de Colonias Granulocíticas (G-CSF) postinfarto agudo de miocardio

A diferencia de los metanálisis realizados en pacientes con administración intracoronaria de células progenitoras, los resultados de los realizados con G-CSF postinfarto reperfundido como terapia adyuvante exclusiva o con colección y administración celular intracoronaria posterior son divergentes, con resultados neutro o positivo según el caso, no justificándose por ello en este momento la ejecución de ensayos clínicos de fase III.

Abdel-Latif et al. incluyeron 385 pacientes de 8 ensayos clínicos aleatorizados con grupo control, sin poder demostrar beneficios significativos en términos de incremento de FEVI, reducción de la escara necrótica o reducción de volúmenes ventriculares.²⁴⁵ Sin embargo, dejan una puerta abierta a un posible beneficio cuando los pacientes tratados parten con mayor disfunción sistólica global y cuando la administración del G-CSF se realiza precozmente, como en el ensayo *FIRSTLINE-AMI*.^{222,223}

Kang et al. seleccionaron 7 estudios aleatorizados y controlados, que incluían pacientes con infarto de miocardio agudo o crónico (antes o después de 14 días desde el infarto respectivamente).²⁴⁶ En los primeros hallaron un beneficio modesto en la FEVI a los 3-12 meses del infarto, y similar incidencia de eventos adversos mayores que el grupo de tratamiento estándar. A pesar de ello, reconocen la gran heterogeneidad tanto en las características de los pacientes y diseño de los estudios, como en los resultados hallados.

Posteriormente, *Fan et al.* realizaron su metanálisis incluyendo 6 estudios aleatorizados con 320 pacientes, 270 de los cuales participaban en un diseño doble ciego con grupo control con placebo.²⁴⁷ A los 6 meses de seguimiento, no hubo diferencias entre grupos en la tasa de reestenosis y el evento clínico combinado muerte de cualquier causa, reinfarto y revascularización de vaso culpable. Asimismo, la FEVI evolucionó de un modo similar, no ofreciendo beneficio sobre el tratamiento estándar, incluso teniendo en cuenta la gran heterogeneidad en los resultados entre estudios. El mismo grupo publica un metanálisis similar en otra revista científica, detectando un posible beneficio en pacientes jóvenes (<55 años).²⁴⁸

Por último, el más reciente metanálisis sobre el impacto del tratamiento con G-CSF en la prevención del remodelado ventricular postinfarto fue publicado por *Zohlh fer et al.* en 2008.²⁴⁹ Con mayor volumen de pacientes (445 de 10 estudios aleatorizados), no hallaron beneficios en cambios de FEVI o tamaño del infarto, añadidos por dicha terapia al manejo habitual del paciente postinfarto.

2.2.6.8. El escenario crónico

Simultáneamente a los estudios sobre regeneración cardiaca en el infarto agudo de miocardio, numerosos grupos de investigadores han tratado de buscar estrategias para revertir el remodelado ventricular una vez establecido, como sucede en la cardiopatía isquémica crónica. En este ámbito la variedad en la investigación en cuanto a las células utilizadas y la vía de administración es mayor. Los resultados de este grupo de estudios han sido heterogéneos en los parámetros de función ventricular valorados, aunque hay que destacar que el desarrollo de ensayos clínicos está menos evolucionado que en el escenario del infarto agudo de miocardio. Este escenario crónico queda alejado de los objetivos fundamentales de esta tesis, por lo que no es discutido en detalle.

2.2.6.9. Seguridad de la terapia celular postinfarto

Cuando se desarrolla una nueva estrategia terapéutica, la seguridad es el principal objetivo en la investigación. Aunque los datos clínicos actualmente disponibles, parecen indicar que la terapia con células madre derivadas de médula ósea postinfarto agudo de miocardio es segura y no se asocia a un incremento del número de sucesos adversos, el grado de “confianza” en dicha seguridad es aún limitado.²⁵⁰ Ello es debido a varios factores, como el escaso tamaño muestral de cada uno de los múltiples estudios publicados (ver Tabla 1), el reducido número global de pacientes tratados (<1.000 en los metanálisis con mayor heterogeneidad en el diseño de los estudios incluidos), la ausencia casi completa de estudios de seguimiento clínico a largo plazo, y el bajo nivel de riesgo basal de los pacientes sometidos a la terapia en la mayoría de los casos.

Para determinar definitivamente la seguridad de la terapia celular postinfarto, sería necesario recoger nuevos datos de estudios previos con seguimientos más prolongados, así como incrementar la duración de dicho seguimiento en el diseño de futuros ensayos con mayor tamaño muestral, ajustando o relacionando los hallazgos clínicos al riesgo de sucesos adversos presupuesto según criterios clínicos o de imagen cardiaca (p.ej. edad, extensión de la enfermedad coronaria, tamaño del infarto, FEVI postinfarto, etc...).

Asimismo, varios aspectos de seguridad deben ser prospectivamente analizados en nuevos estudios, como el destino de las células implantadas (transdiferenciación inapropiada,^{251,252} tumorigenicidad,¹⁷⁵ anidamiento en localizaciones indeseadas,²⁵³⁻²⁵⁵ etc...), el impacto sobre la enfermedad coronaria y aterosclerótica general,²⁵⁶ o la arritmogenicidad en determinados subgrupos de pacientes.²⁵⁷ De esa forma, se conseguirá una traslación del tratamiento regenerativo/reparador con células madre a su uso habitual en un futuro próximo.

2.2.6.10. Factores críticos en la evaluación de la seguridad de la terapia celular aplicada a las enfermedades cardiovasculares

Según se esquematiza en la Figura 4, varios factores deben ser considerados a la hora de evaluar la seguridad clínica de la terapia. Entre ellos se encuentran el estadio o severidad de la enfermedad, el tipo de células utilizado, el procesado de las células, el modo de administración de éstas, y una serie de factores asociados al tratamiento como son el anidamiento celular, y la inducibilidad de arritmias o de aterosclerosis. Todos estarían interrelacionados y podrían afectar al perfil de riesgo de la terapia celular.²⁵⁸

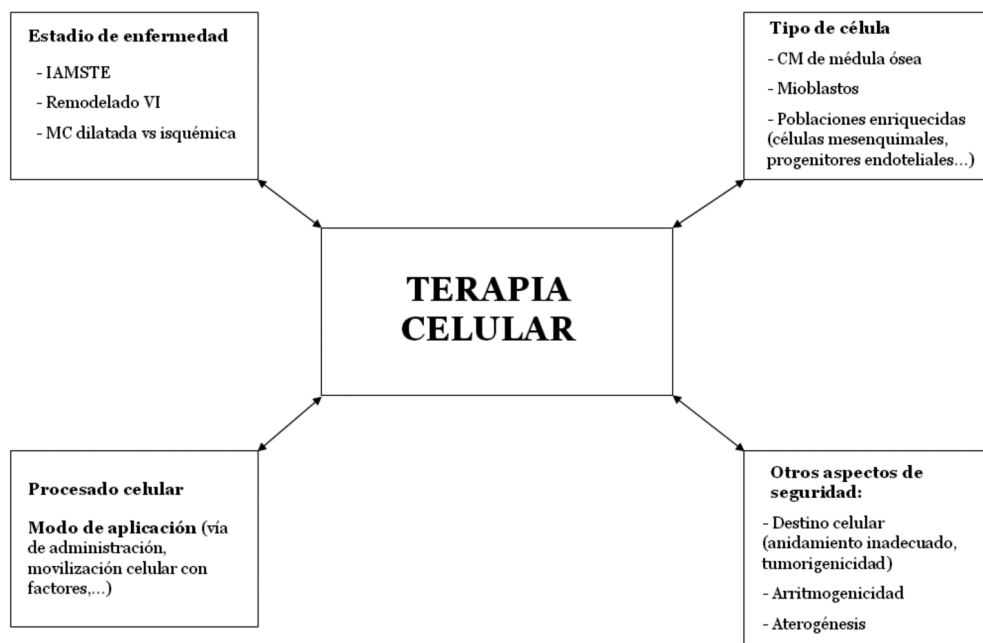


Figura 4. Factores relacionados con la seguridad de la terapia celular aplicada a las enfermedades cardiovasculares. Abreviaturas: IAMSTE, infarto agudo de miocardio con ST elevado; VI, ventrículo izquierdo; MC, Miocardiopatía; CM, células madre. *Adaptado de de Bartunek et al.*²⁵⁸

Como piedra angular de la seguridad y condición *sine qua non* para la realización de este tipo de investigación, se encuentra la realización del procesado celular según normas de calidad establecidas e internacionalmente aceptadas (*GMP, Good Manufacturing Practice*), que afectan tanto al personal que manipula las muestras, como al material e instalaciones en los que se realiza. Todos los ensayos publicados acatan dicha normativa. No obstante, las etapas del procesado celular pueden variar notablemente, e influir en el desenlace del estudio. Como ejemplo paradigmático, dos ensayos clínicos con grupo control aleatorizado, publicados simultáneamente en 2006, ofrecieron resultados divergentes en términos de recuperación de FEVI a corto plazo, utilizando el mismo tipo de células (ensayos *ASTAMI* y *REPAIR-AMI*).^{203,206} En un elegante estudio preclínico ulterior, realizado por los biólogos del *REPAIR-AMI*, se demostró que variaciones ligeras en los protocolos de aislamiento celular (tipo de dispositivo de centrifugado, medio de incubación preimplante) producen cambios dramáticos en el número de células mononucleares obtenido así como en la funcionalidad de los progenitores, en términos de capacidad migratoria en respuesta a citokinas quimiotácticas y capacidad neovascularizadora en modelo de isquemia experimental *in-vivo*.²⁵⁹ Otros investigadores también han mostrado que otros aspectos del protocolo de aislamiento celular, como la velocidad de centrifugado o el medio de lavado utilizado inmediatamente después, también influyen en el número de células recolectado.²⁶⁰ ^{212,213,244} Aunque la dosis de células administrada al paciente no se ha mostrado de una manera invariable como un predictor de mejoría funcional, existen datos que así lo apuntan.^{212,213,244}

Con respecto a la situación individual o estadio/severidad de la enfermedad, en el caso del infarto agudo de miocardio, analizando individualmente el perfil de riesgo de los pacientes tratados con inyección intracoronaria de células madre y/o factores de estimulación, es destacable que la función sistólica global está, salvo en una minoría de estudios,^{192,199,200,210,212,213,215,217,219,221,225,229,230} en un rango que circunda el límite inferior de la normalidad (ver Tabla 1).^{184,186,188,191,194,195,197,201-203,206,209,211,216,218,222,227,228,231,233} Teniendo en cuenta que en la cardiopatía isquémica la FEVI es, junto con el área miocárdica en riesgo (determinada por la extensión, localización y severidad de la enfermedad coronaria), uno de los factores pronóstico más importantes, no es de extrañar que la mayoría de metanálisis concluyan que la terapia postinfarto con células madre derivadas de médula osea alcanza, tanto en su vertiente de inyección intracoronaria,²³⁷⁻²⁴⁴ como en la exclusiva con factores de estimulación celular,^{182,245-249} unos estándares de seguridad razonables. Sin embargo, el hecho de que el mayor beneficio esperable de la terapia se haya observado en aquellos pacientes con situación basal más precaria (p.ej.: FEVI baja²⁰⁶ o escaras transmurales¹⁸⁴), obligará a seleccionar en ensayos futuros a pacientes con mayor disfunción ventricular basal o riesgo elevado

de desarrollar remodelado ventricular adverso en su evolución (p.ej., pacientes con obstrucción microvascular persistente).^{184,261} Como consecuencia, la evaluación de la seguridad de la terapia volverá a ponerse en cuestión en la medida en que la severidad de la enfermedad se modifique.

Con respecto al tipo celular utilizado, en el caso de la terapia en pacientes con infarto agudo de miocardio se ha centrado en células madre derivadas de médula ósea, las cuales han mostrado un bajo perfil de riesgo de eventos adversos asociados, tanto en estudios preclínicos como en ensayos clínicos. Los tipos celulares utilizados para su administración intracoronaria en ensayos clínicos, han sido células mononucleares de médula ósea no seleccionadas,^{184,186-190,192-194,197-199,201,203-219} células madre mesenquimales de médula ósea autóloga expandidas en cultivo,^{191,200} células progenitoras circulantes derivadas de médula ósea y obtenidas por aféresis,^{186,189,190,195,196,202,209,211,214} células progenitoras endoteliales,^{191,200} y subpoblaciones seleccionadas de células progenitoras de médula ósea (CD 133+ ó CD34+CXCR4+).^{199,217} El único suceso adverso claramente asociado al tipo de célula utilizada, ha sido un aumento de la incidencia de sucesos coronarios por reestenosis y/o progresión de aterosclerosis coronaria tras la administración intracoronaria de células CD133+ seleccionadas de médula ósea, con alto potencial angiogénico, probablemente debido a un efecto *Janus-like*, que será comentado más adelante en detalle.¹⁹⁹ Otros tipos de células como las mesenquimales de médula ósea, que en modelos preclínicos de infarto experimental con administración intracoronaria habían mostrado riesgo de provocar microinfartos,²⁶² no han presentado problemas en los dos únicos ensayos clínicos realizados en humanos.^{191,200} Sin embargo, como aspecto negativo, es destacable que la publicación de dichos trabajos no informa específicamente sobre seguridad o sucesos adversos a corto-medio plazo.

En cuanto a la arritmogenicidad de la terapia celular postinfarto, las células madre derivadas de médula ósea han mostrado en el escenario preclínico efectos contrapuestos. Por una parte, *Beeres et al.* objetivaron un efecto beneficioso sobre cardiomiocitos sometidos a bloqueo de conducción experimental al realizar co-cultivo con células mesenquimales de médula ósea, probablemente relacionado con el mantenimiento de la expresión de conexina-43, parte fundamental de las uniones intercelulares (*gap junctions*).²⁶³ No obstante, las mismas células pueden generar arritmias por mecanismo de reentrada según un modelo in vitro similar realizado por *Chang et al.*, quienes sugieren que el acoplamiento entre células mesenquimales no excitables y cardiomiocitos en co-cultivo, incrementaría la heterogeneidad en las propiedades eléctricas del tejido.²⁶⁴ En la investigación clínica, las arritmias ventriculares han sido motivo de preocupación en otras modalidades de terapia celular en pacientes con cardiopatía is-

quémica crónica (p.ej.: inyección transepicárdica de mioblastos esqueléticos durante la cirugía de *bypass* coronario).²⁶⁵ Sin embargo, en pacientes con infarto agudo tratados con células madre derivadas de médula ósea incluidos en ensayos clínicos con grupo control aleatorizado, no han aparecido en mayor proporción. De cualquier modo, no debería infravalorarse la importancia de la vigilancia de este suceso adverso en futuros ensayos clínicos (monitorización ECG precoz y periódica a medio plazo), dado que el sustrato arritmogénico más determinante es la disfunción ventricular, ausente en grado significativo en la mayoría de los estudios publicados (ver Tabla 1).

Con respecto al efecto de la terapia celular sobre el desarrollo o progresión de enfermedad coronaria, parece al menos controvertido según los estudios preclínicos. La administración intravenosa de células madre derivadas de médula ósea en ratones transgénicos dislipémicos (gen de apolipoproteína-E inactivado), con isquemia de miembros inducida, favorece la neoangiogénesis a la vez que incrementa el tamaño de la placa aterosclerótica.²⁶⁶ En el fenómeno de reparación neointimal tras daño vascular experimental, estas células juegan un papel decisivo,²⁶⁷⁻²⁶⁹ del mismo modo que en la reendotelización de prótesis endovasculares o *stents*, puesto que tanto los progenitores endoteliales como las células musculares lisas que forman la neointima, proceden de células madre circulantes derivadas de médula ósea que son reclutadas en la lesión vascular mediante una reacción de tipo inflamatorio.²⁶⁷ Este juego o intercambio de efectos favorables (angiogénesis o colaterogénesis) y desfavorables (aterogénesis) es lo que *Epstein et al.* han denominado efecto *Janus*,²⁵⁶ en referencia al dios romano representado clásicamente con dos rostros apuntando a direcciones opuestas. Con una relevancia clínica indiscutible, el efecto *Janus* implica que cualquier intervención dirigida a incrementar la neovascularización de un tejido, puede favorecer el desarrollo de aterosclerosis, y viceversa. Este efecto, demostrado en el caso de numerosos fármacos, citokinas, moléculas de adhesión leucocitaria y factores metabólicos, aparece de forma similar en los estudios preclínicos con administración de células madre derivadas de médula ósea (efecto *Janus-like*), en los que se ha visto tanto incremento²⁶⁶ como inhibición de la aterogénesis,²⁷⁰ e inducción de colaterogénesis.^{185,271-274} Igualmente en la investigación clínica, se han detectado efectos contrapuestos en diversos estudios.

Kang et al. suspendieron precozmente el reclutamiento de pacientes en un ensayo clínico piloto con uso de G-CSF previo a la reparación mecánica de la lesión culpable del infarto (como única terapia o en combinación con infusión intracoronaria de progenitores celulares circulantes), debido a una tasa elevada de reestenosis intrastent.^{195,196} Aunque sigue siendo una conjetura si este hallazgo está más relacionado con la administración de este factor en un momento inadecuado (4 días antes de la im-

plantación del stent), el mismo grupo de trabajo, en un ensayo clínico posterior con inversión de los tiempos (G-CSF postangioplastia) y con utilización de stent farmacoactivos, no objetivó este evento adverso.²⁰² *Steinwender et al.* también objetivaron una tasa inesperadamente alta de reestenosis intrastent tras la terapia combinada con G-CSF y administración intracoronaria de progenitores circulantes recolectados por aféresis.²⁰⁹ Si bien este efecto *Janus-like* se podría deber al uso del factor de estimulación, otros investigadores han descartado un efecto inductor de hiperplasia neointimal valorada mediante ultrasonidos intracoronarios.²²⁶

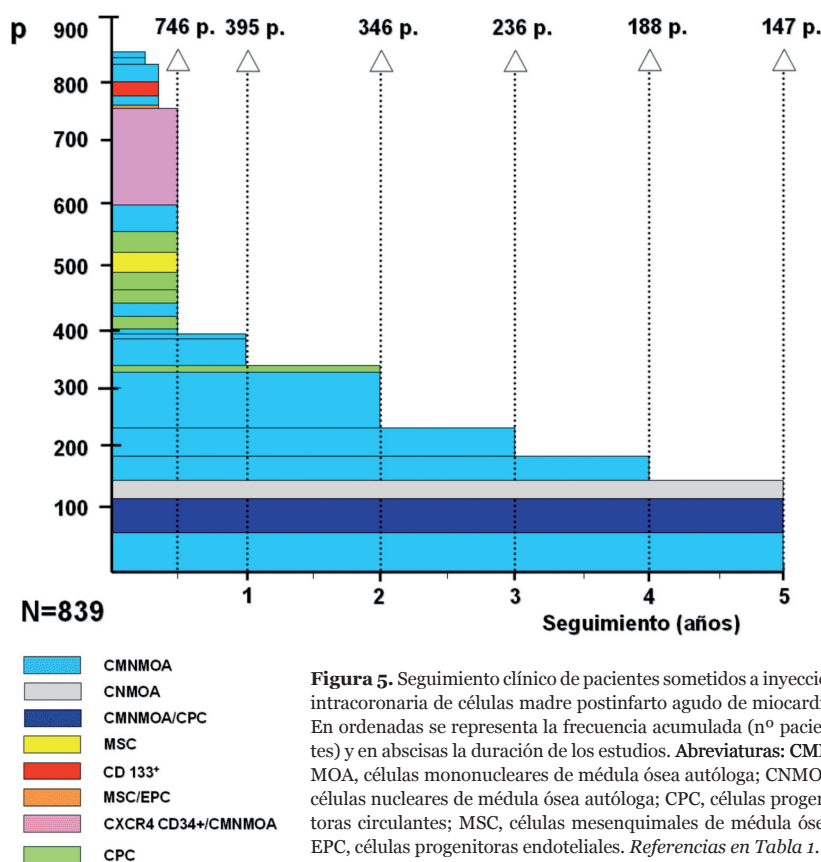
A los estudios citados con factores de estimulación, se suman los hallazgos del grupo de *Bartunek*, quienes tras administrar células CD133+ seleccionadas de médula ósea, con conocido potencial angiogénico, observaron una incidencia excesiva de sucesos coronarios, tanto por reestenosis intrastent como por desarrollo de lesiones coronarias *de novo*.¹⁹⁹ En este caso, los autores señalan, como posible factor patogénico, que el uso de poblaciones enriquecidas en dichos progenitores hematopoyéticos se asociaría a un desequilibrio entre citokinas implicadas con propiedades antiaterogénicas (disminución de interleukina-10) y proaterogénicas (incremento del factor de crecimiento del endotelio vascular, *VEGF-A*).²⁷⁵

En cualquier caso, la utilización de poblaciones no seleccionadas de células mononucleares obtenidas por punción de médula ósea, no se ha relacionado con una mayor incidencia de reestenosis del stent a corto plazo ni de necesidad de intervencionismo percutáneo sobre vaso culpable a 3 años de seguimiento, sugiriendo una ausencia de progresión de aterosclerosis en el lecho distal homocoronario.²⁷⁶ Esto ha sido corroborado por los resultados de seguridad de algunos metanálisis.^{237-239,241,242,244}

2.2.6.11. Información disponible sobre seguridad a largo plazo de la terapia celular postinfarto

Uno de los aspectos más determinantes del nivel de confianza en la seguridad de una terapia, es la duración de los seguimientos clínicos de que se disponga a partir de los estudios realizados. En el caso de la terapia celular tras un infarto agudo de miocardio, los seguimientos son, en su mayoría, de pocos meses (ver Tabla 1). Como muestra de ello, la mediana de seguimiento del metanálisis sobre la terapia con inyección intracoronaria de células madre con mayor número de pacientes es de 4 meses.²³⁷ Lo mismo sucede cuando los estudios analizados con movilización de progenitores de médula ósea con factores de estimulación, siendo además en este caso muy inferior el número de pacientes incluidos.²⁴⁹

En la Figura 5, se representa los seguimientos de los diferentes estudios publicados hasta junio de 2011, con inyección intracoronaria de células madre intracoronaria postinfarto. Mientras que el número de pacientes tratados con seguimiento a los 6 meses es de 746, a 1, 2 y 5 años decrece dramáticamente hasta 395, 346 y 147 pacientes respectivamente. Los ensayos con mayor duración han sido el *REPAIR-AMI* (100 pacientes, 2 años),²⁰⁸ *MAGIC CELL-1* (10 pacientes, 2 años),¹⁹⁶ *ASTAMI* (48 pacientes, 3 años),²⁰⁵ el publicado por *Cao et al.* (41 pacientes, 4 años)²¹⁹, y con 5 años el *BOOST* (30 pacientes),²⁷⁷ el *BALANCE* (62 pacientes)²¹⁸ y el *TOPCARE-AMI* (55 pacientes).



Con respecto a los citados con seguimientos iguales o superiores a 4 años, merece la pena realizar algunas consideraciones. *Cao et al.* analizaron en 41 pacientes la evolución del remodelado ventricular y los sucesos adversos a largo plazo (4 años) tras un implante intracoronario de células mononucleares de médula ósea tras un infarto agudo de miocardio tratado mediante angioplastia primaria.²¹⁹ Ofrecen como dato de enorme interés la ausencia de signos de calcificación o tumores intramiocárdicos. No obstante, es especialmente llamativa la bajísima incidencia de sucesos adversos,

con un solo caso de reestenosis intrastent tratada con intervencionismo percutáneo en el primer año, y un ingreso precoz por insuficiencia cardiaca en el grupo sometido a tratamiento activo. Los autores justifican estos hallazgos por una estricta selección de pacientes para el ensayo clínico, entre otras características con una media de edad de 50 años y tratados mayoritariamente con stents farmacoactivos (85%). Lamentablemente y en consecuencia, la validez externa del estudio a la hora de valorar la seguridad a largo plazo queda circunscrita a pacientes de muy bajo riesgo. Con respecto al estudio *BALANCE*, con un seguimiento medio de 4.6 ± 2.1 años, la información disponible sobre sucesos adversos se limita a la incidencia de muerte (1 caso de 62 tratados), que resulta inferior a la de un grupo control no aleatorizado de similar tamaño, sin ofrecer más datos en cuanto a tasa de reinfarto, reestenosis, revascularizaciones, arritmias u otros sucesos.²¹⁸ Los investigadores del estudio *TOPCARE-AMI*, en una reciente publicación confirman la ausencia calcificación o neoformación cardiaca con un estudio ecocardiográfico protocolizado a los 5 años de la inyección de células mononucleares de médula ósea autóloga o células progenitoras circulantes obtenidas por aféresis.²³⁶ En cuanto a sucesos adversos el perfil de seguridad es excelente, aunque es manifiesta en dicho estudio la selección de pacientes con perfil de bajo riesgo, si analizamos algunos aspectos (p.ej. edad media de los pacientes es menor de 55 años, la cifra media del pico de CPK tras el infarto es inferior a 1000 U/l, etc...). Esto podría justificar al menos en parte el buen pronóstico en términos generales, con una anecdótica incidencia de sucesos adversos graves como la muerte (una solo caso debido a reinfarto y shock cardiogénico en el primer mes) o la rehospitalización por insuficiencia cardiaca en un periodo tan considerable de tiempo (ningún caso). Con el tiempo de seguimiento clínico medio más prolongado (61 ± 11 meses), en 2009 fue publicado el seguimiento de los pacientes del *BOOST*, de similares características a los de ensayos previos salvo por la edad algo superior (56 ± 14 años), y que habían recibido tras un IAMSTE la inyección intracoronaria de células nucleadas de médula ósea autóloga. Descartan, en un nuevo estudio de cardiorresonancia magnética, calcificación o aparición de tumores cardiacos como en otros estudios,^{219,236} e informan exhaustivamente sobre sucesos adversos, algo superiores en número a los otros ensayos citados pero en cualquier caso en proporción similar entre pacientes control y tratados (30 en ambos grupos), y dentro de lo esperable en una población de esas características.

Por lo tanto, aunque disponemos de datos de seguridad probablemente suficientes a corto y medio plazo (<2 años) para pacientes de riesgo medio-bajo, la carencia de información sólida sobre la seguridad en pacientes de mal pronóstico y sobre todo a largo plazo sigue siendo substancial, lo que en sí justifica la realización de esta tesis.

3. Hipótesis y objetivos

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

El trasplante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con infarto agudo de miocardio extenso que han recibido terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario, es factible y seguro a corto y largo plazo. Asimismo, dicha terapia celular podría facilitar la recuperación de la perfusión microvascular, evitar el remodelado e inducir una mejoría de la función ventricular global y regional.

3.2. Objetivos

Objetivo principal

Valorar la factibilidad y seguridad a corto y largo plazo de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con infarto agudo de miocardio extenso que han recibido terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario. De un modo más concreto:

- a) La evaluación de la factibilidad se centrará en el registro de casos (pacientes) en los que no se pudo realizar la selección, procesado e inyección celular y sus causas.
- b) La evaluación de la seguridad se centrará:
 - en el registro y descripción exhaustiva de sucesos adversos periprocedimiento.
 - en la incidencia y descripción exhaustiva de acontecimientos adversos graves y acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares mayores (MACCE) durante el seguimiento.
 - en el estudio exhaustivo del efecto de la terapia sobre la progresión de la aterosclerosis coronaria y la función microvascular.

Objetivos secundarios

Valorar la evolución de parámetros *subrogados* relacionados con el remodelado ventricular (volúmenes ventriculares, fracción de eyección ventricular izquierda, índices de contractilidad segmentaria) a los 6-9 meses postinfarto de miocardio, obtenidos mediante técnicas de imagen cardíaca (cardiorresonancia magnética y ventriculografía con contraste).

4. Metodología

4. METODOLOGÍA

4.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio piloto prospectivo fase I, de seguridad y factibilidad. El protocolo del estudio se redactó de acuerdo con las normas de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético local. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado tras recibir explicación detallada del protocolo.

De forma resumida, se incluyeron para el estudio pacientes mayores de edad, ingresados en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (centro clínico de tercer nivel) con el diagnóstico de infarto agudo de miocardio con ST elevado extenso, que fueron sometidos con éxito a tratamiento de reperfusión exitoso dentro de las 72 horas posteriores al comienzo de los síntomas, y con un área identificable de asinergia en la ventriculografía. Dichos pacientes, tras firmar consentimiento informado, se sometieron a extracción de médula ósea por punción de cresta ilíaca. Tras un procesamiento celular cumpliendo criterios de calidad *GMP* para seleccionar la fracción mononuclear, la suspensión celular autóloga final se administra mediante inyección intracoronaria en la arteria responsable del infarto en un segundo cateterismo. Posteriormente, el paciente se somete a un seguimiento estrecho clínico, analítico, electrocardiográfico y por técnicas de imagen, con el objeto de evaluar el perfil de seguridad de la terapia y la evolución del remodelado ventricular a corto plazo. El seguimiento clínico se prolongó hasta que el seguimiento medio de los pacientes alcanzó 40 meses. En la Figura 6 se esquematiza el protocolo de investigación.

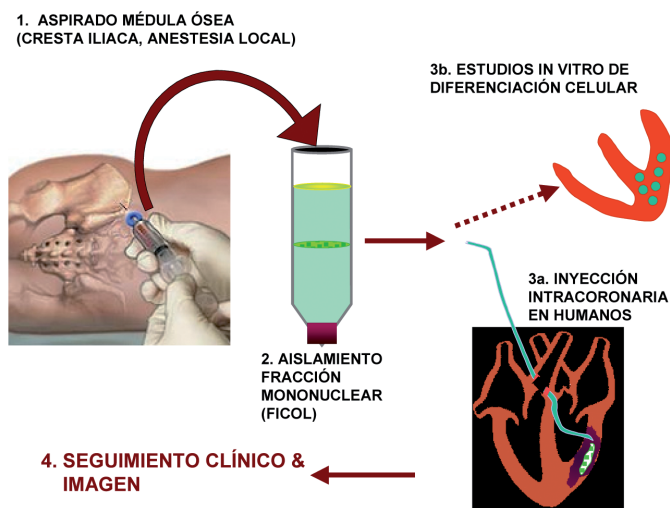


Figura 6. Protocolo de investigación. La investigación parte del paciente con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST. Posteriormente a la reparación adecuada de la arteria responsable del infarto se extraen 50 ml de médula ósea (1). Tras la separación de la fracción mononuclear (2), el 95% de las células obtenidas son transferidas vía intracoronaria al paciente (3a) con objeto de evaluar su factibilidad y seguridad, haciendo un exhaustivo seguimiento clínico y por imagen (4). El 5% de células mononucleares restantes son destinadas al desarrollo de ensayos in vitro para evaluar el grado de diferenciación en cardiomiocitos (3b). Los resultados de los ensayos in Vitro escapan al objetivo de esta tesis por lo que no se comentarán en detalle (consultar referencia ¹⁹⁴)

El estudio incluyó inicialmente 20 pacientes. Se tomaron medidas de enmascaramiento con el objetivo de evaluar los criterios desenlace del estudio. Los resultados preliminares obtenidos fueron publicados en 2004.¹⁹⁴ Una vez aplicado el procedimiento en estos primeros 20 pacientes, un Comité de Eventos Clínicos y Seguridad revisó todos los datos periprocedimiento, sucesos adversos graves y otros sucesos adversos, considerados necesarios, efectuando la recomendación de incrementar en número de pacientes y de prolongar en el tiempo el seguimiento clínico, recomendación seguida por los investigadores del proyecto incluyéndose finalmente 72 pacientes.

En este estudio, se siguieron las Guías actualizadas de manejo del paciente con IAMSTE, sin demoras innecesarias en el tratamiento.^{42,278} Sin embargo, este diseño exigió un segundo cateterismo en la fase aguda del infarto para la inyección intracoronaria de células.

Los criterios de valoración de este ensayo fueron evaluados a los 6-9 meses después del procedimiento. Se hicieron evaluaciones adicionales a los 12 meses después del procedimiento, y posteriormente cada 6 meses.

Criterios de valoración de seguridad y factibilidad

Conforme a los objetivos de este estudio, se usarán varios criterios de valoración para evaluar la seguridad y factibilidad de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea en el tratamiento de pacientes con IAMSTE. Ninguno de los criterios de valoración listados a continuación tiene potencia estadística.

Los criterios de valoración primaria de este ensayo se evaluaron a los 6-9 meses después del procedimiento. Luego se prolongó el seguimiento de los pacientes con intervalos de seguimiento de 6 meses con visita clínica en consulta ambulatoria, y en caso de imposibilidad mediante contacto telefónico durante el seguimiento a largo plazo. Dichos criterios son los siguientes:

- Incidencia de acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares graves (MACCE).
- Nueva hospitalización por insuficiencia cardíaca.
- Angina de pecho según la *Canadian Cardiovascular Society (CCS)*.

- Clase funcional clínica según la *New York Heart Association (NYHA)*.
- Cambio frente al basal en los niveles de marcadores de daño miocárdico (creatin-kinasa [CK], isoenzima MB de la creatin-Kinasa [CK-MB] y troponina T [TnT]) después del procedimiento.
- Monitorización electrocardiográfica continua después del procedimiento (por telemetría), seguida de una monitorización al mes y a los 6-9 meses (Holter de ECG durante 24 horas).
- Monitorización de la progresión de la enfermedad aterosclerótica por angiografía a los 6-9 meses, tanto en la arteria tratada como en la contralateral.
- Monitorización del daño en la perfusión microvascular por angiografía y cuantificando la reserva de flujo coronario en el vaso tratado.
- Posibilidad de extraer 50 ml de médula ósea.
- Obtención de un mínimo de 20×10^6 células mononucleares viables.

Criterios de valoración de eficacia

Los criterios de valoración de eficacia se evaluarán en los momentos especificados en el *Programa de evaluaciones y procedimientos* dentro de la *Sección 4.3 (Desarrollo del ensayo, variables y evaluación de la respuesta)* de este capítulo (*Metodología*). Dichos criterios de valoración fueron considerados objetivos secundarios del estudio.

- Cambio de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y volúmenes ventriculares entre el valor basal y los 6-9 meses postprocedimiento (por resonancia magnética y ventriculografía izquierda con contraste).
- Espesor regional de la pared y engrosamiento en todos los segmentos, inclusive la zona infartada (por resonancia magnética dividiendo el ventrículo según el modelo de la *American Heart Association [AHA]*).²⁷⁹ Contractilidad regional estimada mediante cardiorresonancia, por el índice de motilidad parietal descrito inicialmente para ecocardiografía bidimensional.²⁸⁰

4.2. Selección de sujetos

La población de estudio está integrada por pacientes con infarto agudo de miocardio revascularizados por vía percutánea dentro de las 72 horas desde el inicio de los síntomas, que cumplen con todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión.

Criterios de Inclusión

Los pacientes fueron incluidos en el estudio solamente si cumplían con TODOS los siguientes criterios:

- Edad superior a 18 años.
- Infarto agudo de miocardio definido por:
 - Dolor torácico de tipo isquémico coronario de duración superior a 30 minutos sin respuesta a nitroglicerina.
 - Curva enzimática típica de necrosis miocárdica (CK-MB y Troponina T).
 - Sumatorio de la elevación del segmento ST en todas las derivaciones igual o superior a 6 mm.
- Alteración en la motilidad en la región dependiente de la arteria responsable del infarto (ventriculografía en el momento de la revascularización o, en su defecto, mediante ecocardiografía).
- Revascularización (con ó sin administración previa de agentes trombolíticos) con implantación de stent en la arteria responsable del infarto, con evidencia de recuperación de un flujo epicárdico normal (flujo TIMI grado 3) dentro de las 72 horas posteriores al comienzo del infarto.
- Reparación satisfactoria de la lesión de la arteria responsable del infarto (estenosis residual postangioplastia $\leq 30\%$ por estimación visual).

Criterios de exclusión

Los pacientes en los que se dió una o más de las condiciones siguientes fueron excluidos del estudio:

- Clase clínica Killip IV al ingreso.
- Sospecha o evidencia de complicación mecánica del infarto.
- Historia de taquicardia ventricular sostenida ó fibrilación ventricular posterior a las primeras 24 horas del infarto.
- Portador de desfibrilador cardíaco ó potencial candidato para su implantación.
- Tratamiento en las 4 semanas previas con cualquier fármaco en investigación.
- Uso actual o potencial de drogas antineoplásicas.
- Historia de cáncer en los últimos 5 años.
- Uso actual ó potencial de drogas inmunosupresoras.
- Tratamiento previo con revascularización transmiorcárdica con Láser.
- Mujeres en edad fértil salvo presencia de test de embarazo negativo.
- Cualquier enfermedad que puede afectar la supervivencia del paciente durante la duración del estudio.
- Imposibilidad de retirada del tratamiento con anticoagulantes.
- Hemorragia activa o cirugía mayor en las 2 semanas previas que contraindica la utilización de heparina, abciximab u otros antiagregantes plaquetarios.
- Hemopatía maligna previa (leucemias ó linfomas) ó estados de hipercoagulabilidad (síndrome antifosfolipídico, déficit de antitrombina, proteína C y proteína S, Factor V Leiden).

- Insuficiencia renal previamente conocida con creatinina > 2,5 mg/dL.
- Accidente cerebrovascular de cualquier tipo en el último año o accidente cerebrovascular hemorrágico en alguna ocasión.
- Estar pendiente de algún procedimiento de cirugía mayor de cualquier localización en el próximo año.
- Enfermedad vascular previamente conocida que impida la realización de un cateterismo.
- No firmar el consentimiento informado.

Número de sujetos previstos y tamaño de la muestra

El tamaño de muestra de los estudios de fase I se basa en el criterio clínico, y la meta es conseguir información de seguridad y factibilidad que sea útil y al mismo tiempo reducir el riesgo innecesario a los pacientes. El tamaño de muestra inicialmente seleccionado (20 pacientes) concuerda con el utilizado en los primeros estudios de factibilidad similares en seres humanos,^{186,188,199} y únicamente se amplió su número atendiendo las recomendaciones del Comité de Eventos Clínicos y Seguridad.

Abandono del estudio

Como en todos los ensayos clínicos estuvo prevista la retirada por parte del paciente del estudio siempre que su médico lo considerase oportuno, que no fuese posible administrar la terapia celular, o que el paciente así lo decidiese de forma voluntaria.

En todos los casos, estaba contemplado en el estudio registrar en el formulario de recogida de datos las razones de retirada.

4.3. Desarrollo del ensayo, variables y evaluación de la respuesta

Manejo clínico inicial de los pacientes

Todos los pacientes recibieron una estrategia de reperusión del infarto consistente en la reparación percutánea de la arteria responsable con implantación de un stent, bien mediante angioplastia primaria o mediante angioplastia postfibrinólisis dentro

de las primeras 24 horas del infarto. A lo largo del estudio se utilizaron tanto stents convencionales como farmacoactivos, quedando la decisión sobre el tipo de stent utilizado a criterio del cardiólogo intervencionista en el momento de revascularizar.

Todos los pacientes recibieron tratamiento farmacológico acorde a las recomendaciones actuales.^{42,49,281}

Extracción, procesado e implante celular

En las primeras dos semanas tras el infarto, en el laboratorio de Hemodinámica del Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR, Hospital Clínico Universitario de Valladolid) y en condiciones de esterilidad, se extraen de cada paciente 50 cc de médula ósea mediante punciones repetidas de cresta ilíaca posterior con un trocar de punción (5 cc por punción) bajo sedación ligera y analgesia, y con monitorización de tensión arterial, electrocardiograma y saturación de oxígeno. La muestra se introduce en una bolsa de transferencia junto a 20 cc de sangre periférica heparinizada del paciente. Una muestra de 5 cc se envía al laboratorio de criopreservación para citometría y cultivos.

La fracción mononuclear se obtiene mediante gradiente de densidad en Ficoll antes de lisar los eritrocitos con agua. La suspensión celular se resuspende en medio RPMI-1640 con un 2% de plasma autólogo. Se ajusta el número de células a 1×10^6 /ml. Las células mononucleares se traspasan a una bolsa de teflón y se incuban durante la noche a 37°C con CO₂ al 5%. Al día siguiente, se centrifugan y heparinizan, y se valora la viabilidad con azul tripán.

Con el fin de cuantificar las diferentes subpoblaciones de progenitores existentes en el producto de infusión, se lleva a cabo un análisis inmunofenotípico. Se utilizaron técnicas de inmunofluorescencia directa en un citómetro FACScalibur (Becton Dickinson Biosciences) para detectar los siguientes marcadores de superficie: CD45-FITC/CD117-PE/CD 34 PC5/CD 133-1-APC (CD45 y CD117 de BDB, CD34 de Immunotech y CD133-1 de Miltenyi Biotec). La adquisición de la muestra se realizó con el programa Cell QUEST (BDB) y el análisis de los datos, con Paint-A-GATE PRO (BDB).

La inyección intracoronaria de las células en la región infartada se lleva a cabo en las primeras 24 horas tras la extracción de médula ósea. En el laboratorio de Hemodinámica del Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR, Hospital Clínico Universitario de Valladolid) y en condiciones de esterilidad, se canaliza la arteria coronaria

izquierda con el catéter-guía y se introduce un catéter-balón coaxial que se infla a 2-4 atmósferas en el segmento previamente reparado con stent. Con posterioridad se retira el alambre guía y se utiliza esta luz para la infusión de las células. La suspensión de células se introduce dentro de una jeringa de 50 ml que se encuentra conectada al catéter de infusión. A continuación, se alternan períodos de 2 min de oclusión de la arteria coronaria izquierda con infusión lenta de la suspensión (1 ml/min) con períodos de 1 min de reperfusión con desinflado del balón.

Duración del estudio

Los criterios principales de valoración para todos los pacientes fueron evaluados a los 6-9 meses del procedimiento; sin embargo, el seguimiento clínico con registro de sucesos adversos se prolongó hasta que la media de seguimiento alcanzó 40 meses, con intervalos de seguimiento de 6 meses con visita clínica en consulta ambulatoria, y en caso de imposibilidad mediante contacto telefónico durante el seguimiento a largo plazo.

Se dispensaron formularios de recogida de datos diseñados para facilitar la recopilación y registro de datos. Estos formularios se completaron durante el procedimiento de estudio, después de cualquier acontecimiento adverso y después de cada intervalo de evaluación.

Variables analizadas y definición

1. Acontecimientos adversos / acontecimientos adversos graves / MACCE

Las definiciones utilizadas para definir acontecimiento adverso cumplen con la Buena Práctica Clínica; Guía Consolidada (ICH y E6) y Código de Reglamentaciones Federales, Título 21, Art. 812.

Un acontecimiento adverso se define como cualquier incidente médico negativo en un paciente que ha sido tratado con un tratamiento o dispositivo de investigación, y no necesariamente tiene que haber una relación de causa-efecto con el tratamiento o dispositivo. Un acontecimiento adverso puede ser cualquier signo, síntoma o patología desfavorable y no deseado, tenga o no relación con el tratamiento o dispositivo de investigación.

Un acontecimiento adverso grave se define como cualquier incidente médico negativo que:

- lleva a la muerte,
- pone en peligro la vida del paciente,
- exige la hospitalización o prolonga la actual hospitalización,
- lleva a una discapacidad o incapacidad persistentes o importantes, o
- es una anomalía congénita o defecto de nacimiento.

Un acontecimiento adverso cardíaco o cerebrovascular grave (MACCE) se define como un desenlace compuesto de muerte cardíaca, reinfarto de miocardio (con ó sin onda Q), revascularización del sitio afectado (angioplastia o cirugía de revascularización coronaria), o accidente cerebrovascular o ataque de isquemia transitoria.

Todos los acontecimientos adversos graves o importantes, incluyendo los MACCE, fueron evaluados por el Comité de Monitorización de Datos y Seguridad, y se incluyen en el análisis de seguridad. Se aplicó el criterio médico y científico para decidir si un caso era grave y si era apropiado un informe expedito.

2. Parámetros clínicos

Se define muerte de causa cardíaca a todo aquel fallecimiento excepto en los casos en los que pudo establecerse una causa no cardíaca inequívoca. Concretamente, cualquier muerte inesperada en pacientes con una enfermedad coexistente, potencialmente mortal y no cardíaca (por ejemplo, cáncer o infección) debe clasificarse como muerte cardíaca. Si no hay testigos en el momento del fallecimiento o si el paciente muere por causas desconocidas, se clasificará como muerte cardíaca. Esto incluye todas las muertes relacionadas con el procedimiento, inclusive las relacionadas con un tratamiento concomitante.

Los criterios utilizados para definir un reinfarto fueron los siguientes:

- Aquellos pacientes sometidos al tratamiento celular que tienen dolor en el pecho con una duración ≥ 30 minutos y elevación del segmento ST de ≥ 1 mm en por lo menos dos derivaciones contiguas o nuevo bloqueo de rama izquierda, y aumento en la CK-MB (UNL) $>50\%$ por encima del valor anterior (si la CK-MB estaba previamente aumentada) o aumento en CK-MB superior al límite superior normal (si la CK-MB previa era normal).

- Aquellos pacientes, con o sin dolor torácico, con o sin cambios en el electrocardiograma y aumento en la CK-MB (UNL) >50% por encima del valor anterior (si la CK-MB estaba previamente aumentada) o aumento en CK-MB superior al límite superior normal (si la CK-MB previa era normal).

La angina de pecho se clasificó acorde a la *Canadian Cardiovascular Society*,²⁸² y/o la clasificación de la angina inestable según Braunwald,²⁸³ según su evolución crónica o aguda (inestable) respectivamente.

La clase funcional se clasificó en cuatro grados según los criterios clásicos de la *New York Heart Association* (NYHA).²⁸⁴

Revascularización de la lesión tratada. Se definió como cualquier repetición de la intervención percutánea en la lesión tratada o la cirugía bypass del vaso tratado. Lesión tratada es el lugar que empieza 5 mm proximal a la lesión que lleva el stent y que termina 5 mm distal más allá de la lesión que lleva el stent. En esta medida se midió la reestenosis.

Revascularización del vaso culpable. Se definió como cualquier repetición de la intervención percutánea en el vaso responsable del infarto, independientemente de la localización de la lesión estenótica.

Se definió como ataque cerebral el déficit neurológico persistente, si dicho déficit se recuperaba totalmente en 24 horas se definió como accidente isquémico transitorio (AIT). Ambos tipos fueron contabilizados como MACCE.

3. Signos vitales

El examen físico fue sistematizado basándose en los siguientes sistemas: aspecto general, cabeza (tracto respiratorio y digestivo superior), ojos, sistema respiratorio y cardiovascular, abdomen, sistema urogenital, sistema musculoesquelético, sistema neurológico, ganglios linfáticos y piel.

Los siguientes signos vitales se evaluaron durante el examen físico de acuerdo con el programa cronológico del estudio.

- Presión arterial (sistólica y diastólica; mmHg)
- Frecuencia cardíaca (latidos por minuto)

- Temperatura corporal (°C)
- Frecuencia respiratoria (respiraciones por minuto)

4. Historia clínica y medicaciones concomitantes

Se recogieron todos los datos habituales de la historia clínica del pacientes así como la medicación concomitante. Toda medicación que recibió el paciente se consideró que es una medicación concomitante.

5. Electrocardiograma y monitorización Holter

Se realizaron electrocardiogramas (ECG) de 12 derivaciones y monitorizaciones Holter de acuerdo con el programa de evaluaciones y procedimientos.

6. Parámetros de laboratorio

Las evaluaciones analíticas convencionales así como la determinación de las enzimas de daño miocárdico (TnT, CK y CK-MB) se realizaron en el laboratorio del centro. TnT, CK y CK-MB fueron determinadas utilizando un método enzimático *Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)*.

7. Parámetros de perfusión, función ventricular y progresión aterosclerótica coronaria

- Parámetros de perfusión epicárdica y miocárdica
 - Flujo epicárdico determinado angiográficamente según la escala TIMI.²⁸⁵
 - Flujo miocárdico (determinado angiográficamente según la escala TMPG, *TIMI Myocardial Perfusion Grade*).²⁸⁶
 - Reserva del flujo coronario (CFR, determinada por guía doppler intracoronaria).²⁸⁷
- Función ventricular izquierda
 - Fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI), volumen telesistólico del ventrículo izquierdo (VTSVI) y volumen telediastólico del ven-

trículo izquierdo (VTDVI) (determinados por resonancia magnética y ventriculografía).²⁸⁸⁻²⁹⁰

- Índice de Motilidad Parietal y grosor parietal en área del infarto (determinados por resonancia magnética).²⁹⁰ Valoración de función sistólica regional por ventriculografía mediante el método de la línea central.²⁹¹

- Progresión de la aterosclerosis coronaria en arteria responsable del infarto y contralateral (determinada angiográficamente).²⁹²

- Reestenosis.

- Progresión de estenosis residuales y aparición de lesiones de novo en vaso distal y contralateral.

Estudios de imagen

Todos los análisis de imagen cardiaca se realizaron de manera diferida (*off-line*) en la Unidad de Imagen del ICICOR del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, tras su grabación en formato DICOM. Dichos análisis fueron realizados por expertos en cada una de las técnicas de imagen, sin conocimiento de la evolución clínica de los pacientes ni de los resultados del resto de pruebas.

Los principales estudios por imagen contemplados en la evaluación de los criterios de factibilidad, seguridad y eficacia fueron los siguientes:

1. Resonancia magnética

Todos los estudios se realizaron en una resonancia de 1,5 T (General Electric Signa 4.0) con una antena *phased-array* específica para estudios cardiológicos. El estudio funcional del ventrículo izquierdo (VI) se realizó antes de la administración de contraste con una secuencia con eco de gradiente (*FIESTA*) sensada con el electrocardiograma y en múltiples apneas (tiempo de repetición/tiempo de eco 3.2/1.6, ángulo de orientación 60°, tamaño de la matriz 256×128 mm, campo de visión 320 mm). Las secuencias rápidas de adquisición de imágenes en paralelo no estaban disponibles durante el desarrollo del estudio. Se obtuvieron múltiples planos de eje corto de VI desde base hasta ápex con un grosor de corte de 8 mm y una distancia entre los planos de 1 mm, además de planos 2, 3 y 4 cámaras. Para la valoración de la motilidad seg-

mentaria, el ventrículo izquierdo se divide en 16 segmentos: septo proximal anterior, septo medio anterior, septo proximal posterior, septo medio posterior, septo apical posterior, anterior proximal, anterior medio, anterior apical, lateral proximal, lateral medio, lateral apical, posterior proximal, posterior medio, inferior proximal, inferior medio e inferior apical. Cada segmento es clasificado de 1 a 4 según su motilidad: 1, normal; 2, hipocinesia; 3, acinesia, y 4, discinesia. El índice de motilidad parietal (*WMSI*, *wall motion score index*) se obtiene dividiendo la suma de puntos de todos los segmentos por 16.

En un subgrupo de pacientes se realizó adquisición de imágenes de realce tardío tras administración de gadolinio, para estudio de viabilidad y determinación de la presencia de obstrucción microvascular persistente. Las imágenes de realce tardío de contraste se obtuvieron 10 minutos tras la inyección manual de 0,2 mmol/kg de gadolinio (gadolinio-DTPA) utilizando una secuencia con recuperación del pulso de inversión y con eco de gradiente. El tiempo de inversión se fue ajustando para anular el miocardio. El tamaño de la matriz típico fue 195×192 mm, y el campo de visión fue 320 mm. Los planos de imagen obtenidos con la secuencia de realce tardío fueron los mismos que los seleccionados para el estudio funcional del ventrículo izquierdo.

2. Ventriculografía

Se realizó en todos los pacientes mediante la inyección de contraste a través de un catéter “pigtail” 7 Fr, inyectando unos 40 a 50 ml de contraste a una velocidad de 12 a 15 ml/seg. Las proyección radiológica utilizada fue la oblicua anterior derecha (OAD) a 30°. Las imágenes se obtuvieron con el sistema digital de General Electric, a 25 imágenes/seg. Se estimó la función ventricular global mediante el método área-longitud,²⁹³ Para ello se dibujan las siluetas telediastólica y telesistólica y la longitud base-apex del ventrículo izquierdo. Se efectuó el análisis de la motilidad regional mediante el método del movimiento central de la pared de Sheehan.²⁹¹ Este método mide la contractilidad de 100 cuerdas que se dibujan perpendicularmente a una línea central que discurre entre los contornos telediastólico y telesistólico del ventrículo izquierdo. La movilidad de cada cuerda es normalizada respecto al perímetro telediastólico evitando así la influencia que podría ejercer el tamaño cardíaco. Se calcula para cada cuerda el número de desviaciones estándar por encima o por debajo de la normalidad respecto a un grupo control. Se consideran disfuncionantes aquellas cuerdas cuya contractilidad está más de 1 desviación estándar por debajo de la normalidad. La severidad de la disfunción en el área del infarto se cuantifica por la media del número de desviaciones estándar por debajo de la normalidad (DE/cuerda) que presentó la región estudiada.

3. Métodos de evaluación coronaria

En todos los pacientes se realizó un estudio angiográfico mediante la inyección rápida de contraste yodado a través de un catéter en las proyecciones establecidas con el objeto de estudiar la anatomía coronaria, la incidencia de reestenosis y la aparición de lesiones de novo de forma exhaustiva. Las proyecciones utilizadas fueron también las convencionales, en el estudio de la arteria coronaria izquierda la oblicua anterior derecha (OAD) 30°, OAD 15°-caudal 25°, PA (postero-anterior)-craneal 30-40°, oblicua anterior izquierda (OAI) 45°-craneal 25°, OAI 45°-caudal 25° y lateral 90°, en el estudio de la coronaria derecha la OAI 45°, PA-craneal 30° y OAD 30°. La cuantificación angiográfica se realizó con el programa QCA-CMS/3.0 y QLVA/4.0 de *ME-DIS-Medical Imaging System*. Se midieron o calcularon en su caso, en todas y cada una de las lesiones culpables tratadas con stent, los siguientes parámetros: diámetro de referencia, diámetro luminal mínimo (DLM), porcentaje de estenosis (respecto al diámetro de referencia), ganancia aguda (DLM postimplante celular - DLM previo al intervencionismo percutáneo inicial), pérdida luminal tardía o *late loss* (DLM postimplante celular - DLM en el seguimiento).

Asimismo, se realizó en un subgrupo de pacientes la evaluación angiográfica en el segmento de arteria culpable distal a la lesión reparada y en la arteria contralateral, para cuantificar la progresión de la enfermedad coronaria. Para esta evaluación, se seleccionaron segmentos distales de arteria culpable con al menos 30 mm de longitud y 1.5 mm de diámetro luminal mínimo, comenzando a medir desde un punto situado 5 mm distal al borde distal del stent. Los parámetros medidos fueron el diámetro de referencia, el DLM y el porcentaje de estenosis respecto al diámetro de referencia. En cuanto a la arteria contralateral, se seleccionaron segmentos con una longitud entre 40 y 60 mm, midiéndose los mismos parámetros que en el caso anterior.

En un subgrupo de pacientes se realizó una ecografía intracoronaria para cuantificar la evolución de la reestenosis y el desarrollo de hiperplasia neointimal en el seguimiento. Se realizaron grabaciones de imágenes de IVUS en el segmento tratado con stent y los 5 mm adyacentes a los bordes proximal y distal de éste, con una sonda Atlantis SR Pro de 40 MHz (Boston, EE.UU.) y la consola correspondiente Galaxy II (Boston, EE.UU.), tras la administración intracoronaria de 200 µg de nitroglicerina, con retirada automática a 0.5 mm/s (30 imágenes/s). Las mediciones cuantitativas se realizaron según estándares habituales.²⁹⁴ La detección de contornos para la reconstrucción tridimensional de imágenes y análisis del segmento tratado con stent se realizó con la utilización de *software* específico (QCU-CMS 1.0 clinical edition, Medis, Países Bajos).

Del mismo modo, un subgrupo de pacientes se sometió a ecografía intracoronaria en el segmento de arteria culpable distal a la lesión reparada, para cuantificar el desarrollo de hiperplasia neointimal en el vaso que recibió la infusión de células.

En todos los pacientes se realizó un estudio exhaustivo de la perfusión, para el análisis centralizado posterior de la evolución de la perfusión microvascular mediante el análisis de la perfusión angiográfica (TIMI Myocardial Perfusion Grade [TMPG] más angiografía de sustracción digital).²⁸⁶ Asimismo se realizó análisis de la reserva de flujo coronario (CFR) y de la reserva fraccional del flujo coronario (FFR) en la arteria responsable del infarto con sonda doppler y guía de presión intracoronarias respectivamente.²⁸⁷

Programa de evaluaciones y procedimientos

El siguiente apartado describe el programa cronológico de las evaluaciones y procedimientos:

1. Selección de pacientes

Todos los pacientes que cumplieran los criterios de inclusión y no tenían ningún criterio de exclusión firmaron el consentimiento informado preceptivo antes de ser incluidos en el estudio. Los mismos fueron sometidos a los siguientes procedimientos:

- Evaluación clínica y examen físico.
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.
- Exámenes de laboratorio.
- Telemetría continua (24 horas).
- Ecocardiograma bidimensional y doppler transtorácico.
- Resonancia Magnética cardiaca.

2. Inyección de células

El día anterior al implante celular se procedía al aspirado de 50 ml de médula ósea de la cresta iliaca y a la separación de la fracción mononuclear según se explicó en

detalle en el subapartado *Extracción, procesado e implante celular* (4.3. *Desarrollo del ensayo, variables y evaluación de la respuesta*). Los siguientes procedimientos se realizaron antes de inyectar las células:

- Ventriculografía izquierda con contraste.
- Angiografía coronaria.
- Medición de la reserva de flujo coronario (CRF).

Inmediatamente después de la inyección celular, se repite la medición de la reserva de flujo coronario (CRF).

3. Desde la inyección de células hasta el alta hospitalaria (24-48 horas después)

- Evaluación clínica y examen físico.
- Exámenes de laboratorio.
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.
- Telemetría continua (24 horas).

4. Un mes después de la inyección de células en consulta ambulatoria

- Evaluación clínica y examen físico.
- Exámenes de laboratorio.
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.
- Holter de ECG durante 24 horas.

5. Seis a nueve meses después de la inyección de células mediante ingreso programado de 24 horas:

- Evaluación clínica y examen físico.

- Exámenes de laboratorio.
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.
- Holter de ECG durante 24 horas.
- Ventriculografía izquierda con contraste.
- Angiografía coronaria.
- Resonancia magnética cardíaca.

6. Doce meses después de la inyección de células y posteriormente cada 6 meses:

- Evaluación clínica y examen físico.
- Exámenes de laboratorio.
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.

4.4. Mecanismos de control de calidad. Recogida de datos. Plan de análisis estadístico

Control de calidad

La extracción, manipulación y preparación final del producto celular es un procedimiento estandarizado realizado por hematólogos de la Unidad de Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y/o médula ósea del Hospital Del Río Hortega de Valladolid y biólogos del Instituto de Biología y Genética Molecular de la Universidad de Valladolid. La Unidad de Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y/o médula ósea del Servicio de Hematología del Hospital Del Río Hortega de Valladolid cuenta con la autorización de la Junta de Castilla y León y la acreditación de calidad según la normal ISO 9001:2000. Durante todo el procedimiento se mantiene mediante rotulación la identificación del paciente (donante y receptor al mismo tiempo) en los tubos y bolsas utilizados para la manipulación y preparación final, al igual que la jeringa con tapón de rosca de 50 mL que se traslada al laboratorio de Hemodinámica para su infusión intracoronaria.

La experiencia de ambos centros en la producción de “células madre de médula ósea autóloga” es muy dilatada, habiéndose realizado la Unidad de Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y/o médula ósea del Hospital Río Hortega de Valladolid desde la fecha de autorización en noviembre de 1995 hasta enero de 2005, 161 procedimientos.

La autorización y acreditación para la realización de trasplantes autólogos de médula ósea y trasplantes de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica en el Laboratorio de Criopreservación del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Del Río Hortega, ha sido publicada en el Boletín Oficial de Castilla y León (B.O.C.Y.L.) de 20-Noviembre-1995, con renovación de la acreditación según los requisitos establecidos en el Decreto 93/1999, de 29 de abril y en el Real Decreto 411/1996 de 1 de Marzo tras informe técnico favorable publicado en el B.O.C.Y.L. de 19-Junio-2001; la acreditación de calidad según la norma ISO 9001:2000, a su vez fue verificada inicialmente el 13-Oct-2000 y renovado anualmente mediante auditorías externas con recertificación el 16-Oct-2003.

Con respecto al manejo clínico y la realización de intervencionismo coronario percutáneo, en este estudio se siguieron de forma escrupulosa las Guías actualizadas de manejo del paciente con infarto agudo de miocardio con ST elevado,^{42,278} así como las de Intervencionismo Coronario Percutáneo durante los cateterismos.^{49,295} La inyección intracoronaria de células fue llevada a cabo por cardiólogos intervencionistas debidamente acreditados por la Sociedad Española de Cardiología, con dilatada experiencia en el campo, siendo el número medio de angioplastias del centro de 1.300 por año.

Seguridad del estudio

Un Comité de Eventos Clínicos y Seguridad revisó todos los datos periprocedimiento, sucesos adversos graves y otros sucesos adversos, considerados necesarios mediante la revisión de historias clínicas y los correspondientes cuadernos de recogida de datos (CRD). Dicho comité estaba constituido por un presidente, cardiólogo veterano y experto de prestigio reconocido, otros dos cardiólogos expertos, y un hematólogo, ninguno de ellos involucrado directamente en el desarrollo de este proyecto de investigación. El Comité de Seguridad recibió comunicación, de manera continua, de todos los sucesos adversos, y de él partió la recomendación de incrementar el número de pacientes incluidos y de prolongar el seguimiento clínico de los pacientes a largo plazo.

Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresan en frecuencia absoluta y relativa (porcentaje) y las continuas como media y desviación estándar o mediana y rango intercuartílico según corresponda (distribución normal o no normal). Se presentan los intervalos de confianza del 95%. Para la comparación de variables categóricas se ha empleado el Chi-cuadrado o el test de Fisher cuando era necesario. Para comparar variables continuas se ha utilizado el test de la “t” de Student o su homólogo no paramétrico, el test U de Mann-Whitney, si no cumplía la hipótesis de normalidad. Para evaluar la evolución basal-seguimiento de las variables continuas se ha utilizado el test t de Student para datos apareados y en el caso de variables no normales su homólogo no paramétrico, el test de Wilcoxon. Todos los análisis estadísticos se han realizado con un nivel de significación del 5%, y con el paquete estadístico SPSS, versión 12.1.

Se realizaron a su vez varios subanálisis estadísticos específicos, en concreto, en análisis del desarrollo de reestenosis intrastent e hiperplasia neointimal según el tipo de stent implantado, el análisis de progresión de aterosclerosis coronaria de segmentos no tratados en arteria culpable y contralateral en comparación con un grupo control “armonizado” (*matched*), y el análisis del impacto de la obstrucción microvascular persistente en el resultado de la terapia celular. A continuación se resume la metodología estadística en estos casos:

1. Análisis del desarrollo de reestenosis intrastent e hiperplasia neointimal según el tipo de stent implantado: se realizó una análisis multivariable según un modelo de regresión lineal múltiple en pasos sucesivos (método de pasos hacia atrás), para identificar predictores independientes de pérdida luminal tardía en el seguimiento. Se incluyeron en dicho modelo aquellas variables angiográficas o relacionadas con el procedimiento de implante celular con diferencias significativas entre grupos (según tipo de stent), o consideradas epidemiológicamente relevantes o con potencial impacto sobre la variable dependiente.
2. Análisis de progresión de aterosclerosis coronaria de segmentos no tratados en arteria culpable y contralateral en comparación con un grupo control “armonizado” (*matched*). El grupo control se obtuvo de pacientes contemporáneos procedentes del ensayo clínico multicéntrico español *GRACIA-3*,²⁹⁶ los cuales se sometieron a similar estrategia de reperfusión tras un infarto agudo de miocardio. Los siguientes criterios se utilizaron para el emparejamiento de casos: edad, sexo, número de factores de riesgo cardiovascular (diabetes, dislipemia, hipertensión arte-

rial, tabaquismo), tipo de stent implantado (desnudo o farmacoactivo), y la FEVI basal. Para la comparación de la evolución basal-seguimiento de los parámetros angiográficos se utilizaron los test indicados previamente según la distribución de la variable.

3. Análisis del impacto de la obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular postinfarto. Los pacientes de este subestudio fueron seleccionados de forma consecutiva, y clasificados en dos grupos en función de la presencia o ausencia de obstrucción microvascular persistente en el estudio de viabilidad con realce tardío con gadolinio. Se realizó una comparación de la evolución basal-seguimiento de parámetros de cardi resonancia magnética relacionados con el remodelado ventricular (volúmenes ventriculares, FEVI y contractilidad regional) y morfológicos (grosor parietal en el área infartada, tamaño del infarto).

4.5. Aspectos éticos y legales

Cualquiera de los ensayos clínicos exige el cumplimiento de todas las normas éticas de investigación y requerimientos legales que establece la legislación correspondiente. Se cumplieron los principios éticos de investigación que se recogen en la Declaración de Helsinki y en el informe *Belmont*. Asimismo, se cumplieron la dos disposiciones legales que rigen la investigación en humanos. Por un lado, la Ley Orgánica para la Regulación del Tratamiento Automatizado de Datos de Carácter Personal y por otro lado, el Real Decreto por el que se Establecen los Requisitos para la Realización de Ensayos Clínicos. Asimismo, se cumplió específicamente lo dispuesto sobre medicina regenerativa en la Ley 14/2006. Los ensayos clínicos presentados en este proyecto de investigación fueron aceptados por el Comité Ético del hospital.

5. Resultados

5. RESULTADOS

Entre septiembre de 2002 y agosto de 2005 se completó la inclusión de 72 pacientes en el estudio (edad media, 59±12 años), 63 de ellos varones (88%). La Tabla 2 describe las características basales de los pacientes. La estrategia de reperfusión utilizada fue la angioplastia postfibrinólisis en 52 pacientes y la angioplastia primaria en los 20 restantes. En los pacientes tratados inicialmente con fibrinólisis se utilizó en todos los casos tenecteplase. Asimismo, en este grupo no fue necesaria la implantación de un stent en 3 pacientes por no tener una lesión residual significativa. El tratamiento farmacológico administrado durante el ingreso y al alta hospitalaria se adaptó a las recomendaciones de las guías de práctica clínica.

Tabla 2. Características basales de la población a estudio

Pacientes, N	72
Edad, años	59±12
Sexo, varón	63 (88%)
Diabetes mellitus	10 (14%)
Hipertensión arterial	26 (36%)
Dislipemia	28 (39%)
Tabaquismo activo	41 (57%)
Infarto de localización anterior	56 (78%)
Sumatorio elevación ST basal, mm	18±11
Tiempo inicio dolor a reperfusión, min	752±1,801
Pico de CK, U/L	3,380±2,950
Pico de CK-MB, U/L	381±283
Pico de troponina T, ng/mL	9.0±7.9
Estrategia de reperfusión	
Angioplastia primaria	20 (28%)
Angioplastia posttrombólisis	52 (72%)
Extensión enfermedad coronaria	
1 vaso	53 (74%)
2 vasos	13 (18%)
3 vasos	6 (8%)

Tratamiento al alta

Aspirina	69 (96%)
Clopidogrel	61 (85%)
IECA	52 (72%)
ARA-II	2 (3%)
Betabloqueantes	68 (94%)
Anticoagulantes orales	10 (14%)
Estatinas	65 (90%)

Valores expresados como media \pm desviación estándar o frecuencia absoluta (y relativa) según el tipo de variable. CK significa creatin-kinasa; IECA significa inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II significa antagonistas de los receptores AT₁ de la angiotensina-II

5.1. Seguridad del procedimiento de implante celular

En todos los pacientes se pudo extraer 50 ml de médula ósea de cresta ilíaca. El procedimiento de inyección intracoronaria de la fracción mononuclear de la médula ósea se pudo completar en todos los pacientes a los 10 ± 4 días desde el infarto. Se administraron $92 \pm 54 \times 10^6$ células mononucleadas (rango, $11-280 \times 10^6$). En 2 (3%) pacientes se administraron menos de 20×10^6 células. El porcentaje de progenitores en el producto celular infundido fue: células CD34⁺, $1.18 \pm 0.78\%$; CD117⁺, $2.28 \pm 1.25\%$; y CD133⁺, $0.84 \pm 0.62\%$.

Como sucesos adversos relacionados con el implante celular, un paciente sin stent implantado durante la revascularización al ingreso por ausencia de lesión identificable significativa, presentó trombosis aguda de arteria responsable del infarto durante la infusión celular, resolviéndose el evento de inmediato con implante de stent y sin elevación de enzimas miocárdicos ni otras complicaciones. Otro paciente presentó pseudoaneurisma femoral derecho a raíz del cateterismo del implante celular, detectándose en estudio ecográfico una enfermedad arterial polianeurismática, por lo que su seguimiento por imagen se restringió a los estudios de cardiioresonancia a partir de entonces.

Las mediciones de los marcadores miocárdicos tras el implante celular no incrementaron sus valores basales (TnT antes y 24 horas después del procedimiento: 0.62 ± 1.02 ng/mL y 0.58 ± 0.83 ng/mL respectivamente, $p=0.003$; CK-MB antes y 24 horas después del procedimiento: 20 ± 30 y 13 ± 3 respectivamente, $p=0.30$). La infusión intracoronaria tampoco modificó los parámetros de flujo microvascular (FFR en máxima hiperhemia antes y después de la infusión celular: 0.92 ± 0.05 vs. 0.91 ± 0.05 respectivamente, $p=0.63$; CFR antes y después de la infusión celular: 1.85 ± 0.79 vs. 1.91 ± 0.99 respectivamente, $p=0.52$).

5.2. Evolución clínica

Fue posible obtener seguimiento clínico, en el primer año, en todos los pacientes (100%). Perdimos el seguimiento posterior a la visita de 12 meses en un paciente. La media de seguimiento fue de 40±10 meses (mediana 39 meses, rango de 12 a 63 meses). Tres pacientes fallecieron por causas no cardíacas (neumonía, leucemia aguda mieloblástica y cáncer pulmonar a los 27, 43 y 43 meses respectivamente). Nueve pacientes fueron hospitalizados por causa cardíaca (3 por arritmias ventriculares, 3 por reinfarto, 2 por angina inestable y 1 por insuficiencia cardíaca). De los 9 revascularizados (12%) sólo 5 presentaban síntomas, el resto fue revascularizado por detectarse estenosis significativas en el seguimiento angiográfico. La Tabla 3 muestra en detalle los sucesos cardiovasculares adversos observados en el seguimiento.

Tabla 3. Evolución clínica

Complicación	N	Tiempo al evento
Pacientes	72	
Seguimiento clínico 12 meses	72 (100%)	
Tiempo de seguimiento, meses	40±10	
Muerte	3 (4.1%)	27, 43 y 43 meses
Muerte cardiovascular	0 (0%)	
Reinfarto	3 (4.1%)	10, 38 y 43 meses
Ictus 1 (1.4%)	1 mes	
Hospitalización por IC	1 (1.4%)	3 meses
Arritmias ventriculares	5 (6.9%)	1, 2 y 3 días, 1 y 54 meses
Hospitalización por angina	2 (2.8%)	4 y 4 meses
Nueva revascularización	9	4, 6, 6, 6, 7, 9, 10 meses
Lesión culpable*	4	1, 6, 6 y 7 meses
Lesión <i>de novo</i>	6	4, 4, 6, 6, 8 y 43 meses

Valores expresados como media ± desviación estándar o frecuencia absoluta (y relativa si procede) según el tipo de variable. IC indica insuficiencia cardíaca. **Target lesion revascularization (TLR)*, arteria tratada con células mononucleadas.

A los 5 años de seguimiento, la probabilidad de supervivencia libre de acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares graves (MACCE: muerte, reinfarto, revascularización de vaso culpable o ataque cerebral) fue del 79% (Figura 7). Asimismo, la probabilidad de supervivencia libre del suceso combinado muerte u hospitalización de causa cardíaca a los 5 años fue del 80% (Figura 8).

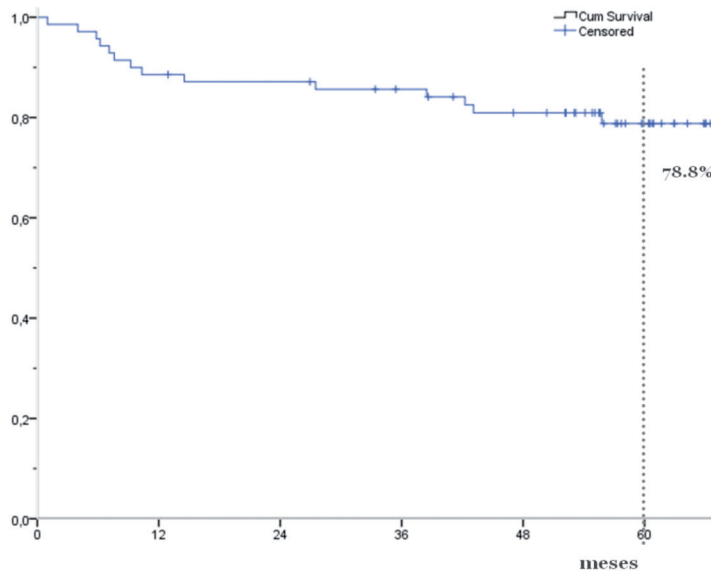


Figura 7. Curva de supervivencia de Kaplan Meier. El eje de ordenadas representa la probabilidad de supervivencia libre de acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares graves (MACCE: muerte, reinfarto, revascularización coronaria o ataque cerebral). El valor caracterizado representa dicha probabilidad a cinco años de seguimiento.

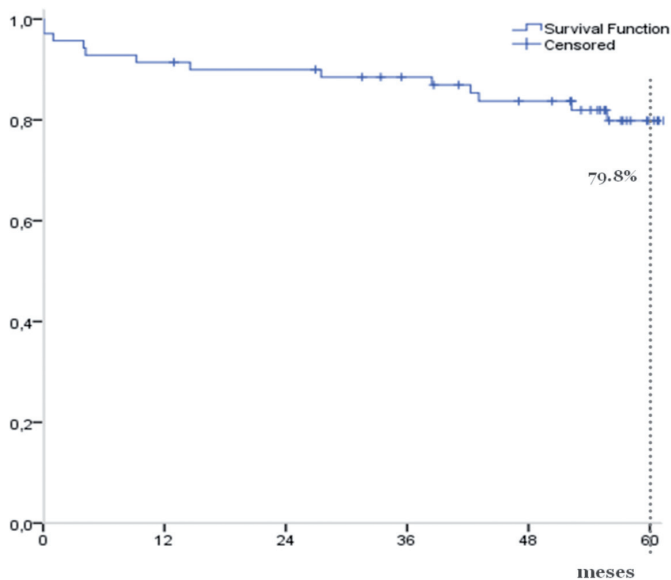


Figura 8. Curva de supervivencia de Kaplan Meier. El eje de ordenadas representa la probabilidad de supervivencia libre del suceso combinado muerte u hospitalización por causa cardíaca. El valor caracterizado representa dicha probabilidad a cinco años de seguimiento.

5.3. Arritmias ventriculares²⁵⁷

En 5 pacientes (6.9%) se detectó algún episodio de arritmias ventriculares durante el seguimiento, cuatro de ellos a corto plazo (primer mes postimplante celular). Dos pacientes (2.8%) presentaron episodios continuados de taquicardia ventricular sostenida en forma de tormenta arrítmica entre el 2º y 3º día de la inyección celular (Figura 9), pese a no haber sufrido complicaciones ni eventos arrítmicos en la monitorización electrocardiográfica en las primeras 24 horas postprocedimiento. Ambos episodios pudieron ser cardiovertidos y controlados con amiodarona. Dichos pacientes (A y B) tenían deterioro grave de la FEVI a consecuencia de un infarto extenso de localización anterior (Tabla 4), y a los dos se les implantó un desfibrilador automático, una vez descartadas complicaciones isquémicas con nueva coronariografía. Otro paciente (C) con fracción de eyección basal del 46% e infarto de localización inferior presentó en la monitorización con Holter al mes del implante episodios de taquicardia ventricular no sostenida (Figura 10). En dicho paciente se realizó una ergometría y una nueva angiografía que descartaron complicaciones isquémicas. El estudio electrofisiológico, utilizando un protocolo estándar de hasta tres extraestímulos en ritmo sinusal y estimulación en ápex de ventrículo derecho a 600 y 400 mseg, con un intervalo de acoplamiento mínimo de 200 mseg o hasta detectar el periodo refractario, indujo taquicardia ventricular sostenida mal tolerada. Consecuencia de este resultado se implantó un desfibrilador implantable a dicho paciente. En otro paciente (D), con deterioro moderado de la función ventricular e infarto de localización anterior, se detectaron rachas de taquicardia ventricular no sostenida en la monitorización rutinaria durante la hospitalización tras el implante celular. Una vez descartada cualquier complicación isquémica se realizó un estudio electrofisiológico que no fue capaz de inducir arritmias ventriculares. Por último, el paciente restante (E), con deterioro grave de función ventricular tras un infarto de localización anterior (FEVI 27% basal), sufrió una fibrilación ventricular resucitada con éxito 54 meses tras el implante celular, siéndole implantado un desfibrilador.

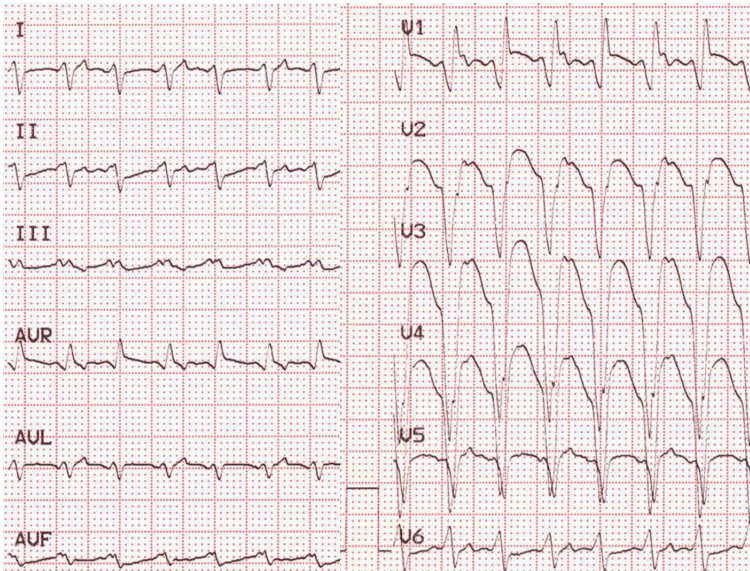


Figura 9. Ejemplo representativo de un episodio de taquicardia ventricular sostenida monomorfa observado en el primer paciente (A) en el que constatamos complicaciones arrítmicas durante el seguimiento. El paciente había tenido un infarto de localización anterior con deterioro grave de la FEVI (19%). La tormenta arrítmica constatada ocurrió al segundo día del implante celular, trece días después de su episodio de infarto agudo de miocardio. Durante ese periodo no se había constatado, pese a la monitorización episodio alguno de arritmias ventriculares.

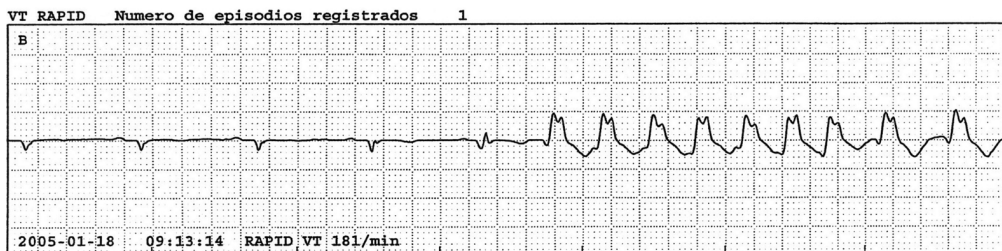


Figura 10. Taquicardia ventricular no sostenida registrada en Holter de ECG en el paciente C. Durante el estudio electrofisiológico realizado posteriormente fue posible inducir una taquicardia ventricular sostenida mal tolerada.

En ninguno de los cuatro pacientes con arritmias precoces se ha detectado nuevos episodios arrítmicos en el seguimiento a largo plazo (639 ± 59 días). La monitorización eléctrica se realizó utilizando el almacenamiento del desfibrilador automático implantable en tres pacientes y monitorizando al paciente en el que no se implantó un desfibrilador con Holter de ECG cada 6 meses. En cuanto al paciente con fibrilación ventricular tardía, no ha sido posible conocer este dato al haberse realizado su seguimiento a largo plazo para este estudio mediante consulta telefónica (cambio de residencia y manejo clínico en otro centro hospitalario).

Las características detalladas de los pacientes con arritmias precoces (primer mes postimplante) se exponen en la Tabla 4.

Tabla 4. Características de los pacientes que presentaron arritmias ventriculares precoces (primer mes postimplante celular).

Características	Paciente A	Paciente B	Paciente C	Paciente D	Resto
Pacientes, N	1	1	1	1	68
Edad, años	50	44	75	68	59±12
Sexo, varón	SI	SI	SI	SI	59 (86%)
Arteria responsable del infarto	DA	DA	CD	DA	DA (53)
Pico CK, U/L	1,844	5,774	2,611	7,303	3,320±2,976
Pico CK-MB, U/L	159	478	328	1230	371±266
Pico troponina T, ng/mL	8.7	12.4	10.0	25.0	8.7±7.9
Angioplastia posttrombólisis	NO	SI	SI	SI	46 (68%)
Días desde el infarto a la inyección	11	4	10	11	10±4
Nº de células administradas, x 10 ⁶	140	150	90	150	89±55
Características fenotípicas celulares					
CD 34+	0.79	0.48	0.62	1.29	1.20±0.79
CD 117+	1.76	1.96	1.67	3.08	2.29±1.28
CD 133+	0.37	0.37	0.39	0.69	0.87±0.63
Función ventricular, basal					
Volumen telediastólico, ml	203	126	141	214	161±36
Volumen telesistólico, ml	164	93	76	136	89±31
FEVI, %	19	26	46	36	46±10
Índice de motilidad parietal	2.0	1.88	1.37	1.93	1.54±0.29
Viabilidad	NO	NO	SI	NO	15 (22%)
Seguimiento, días	682	579	697	362	836±288
Seguimiento desfibrilador, días	649	473	636	NA	NA

En última columna (Resto), valores expresados como media ± desviación estándar o frecuencia absoluta (y relativa) según el tipo de variable. DA indica arteria coronaria descendente anterior; CD, coronaria derecha; NA, no aplicable.

5.4. Progresión de la aterosclerosis coronaria: reestenosis y pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent²⁹⁷

Fue posible hacer un seguimiento angiográfico acorde al protocolo establecido en 61 pacientes (85%), no realizándose en los 11 casos restantes por rechazo del paciente a nuevos procedimientos invasivos o por problemas técnicos en el almacenamiento de imágenes.

En el análisis off-line en la Unidad de Imagen Cardíaca de las coronariografías de seguimiento, cuatro pacientes (5.5%) presentaron reestenosis binaria (3 pacientes con stent convencional y 1 paciente con stent recubierto), aunque en total 6 pacientes (8.3%) se sometieron a revascularización (4 en arteria culpable y 2 en contralateral) por decisión del cardiólogo intervencionista durante dicho cateterismo. En un paciente ingresado por angina inestable a los 4 meses del infarto se constató trombosis tardía del stent convencional implantado en arteria contralateral. En el conjunto de pacientes con seguimiento angiográfico (61 casos), la pérdida luminal tardía (late loss) en la lesión culpable fue de 0.57 ± 0.52 mm.

Se realizó un análisis comparativo de la evolución angiográfica de la lesión tratada en función del tipo de stent implantado (convencional vs farmacoactivo). Los datos demográficos y clínicos basales, así como los relacionados con el procedimiento de implante celular, en función del tipo de stent implantado se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5. Características basales y relacionadas con el procedimiento de inyección de células en función del tipo de stent implantado.

	Stent convencional (n=37)	Stent farmacoactivo (n=22)	p
Edad (años)	59±12	59±11	0.96
Sexo, varón	32 (87%)	20 (91%)	0.70
Diabetes mellitus	3 (8%)	5 (23%)	0.13
Hipertensión arterial	13 (35%)	6 (27%)	0.53
Dislipemia	16 (43%)	7 (31%)	0.38
Tabaquismo activo	24 (65%)	11 (50%)	0.89
CPK-MB máxima (U/l)	250 (179-382)	323 (205-580)	0.45
Troponina T máxima (ng/ml)	5.5 (3.4-8.8)	8.0 (3.0-14.1)	0.50
Arteria culpable: DA/CX/CD	26/3/8	19/0/3	0.26
Sumatorio de ST elevado (mm)	16±10	18±11	0.71
Estrategia de reperfusión:			0.23
Angioplastia primaria	12 (32%)	4 (18%)	
Angioplastia posttrombólisis	25 (68%)	18 (82%)	
Tiempo ICP-inyección celular (días)	11 (8-14)	10 (8-11)	0.10
Número de células implantadas (×106)	89±54	96±61	0.59
Distribución fenotípica celular (%):			
CD34+	18 (82%)	1.11±1.12	0.08
CD117+	1.69±1.11	2.46±1.17	0.003
CD133+	0.58±0.42	0.85±0.82	0.03
Tratamiento al alta:			
Aspirina	36 (97%)	21 (96%)	0.99
Clopidogrel	33 (89%)	19 (86%)	0.99
IECA	25 (68%)	15 (68%)	0.96
Betabloqueantes	35 (95%)	21 (96%)	0.99
Estatinas	34 (92%)	20 (91%)	0.99

Valores expresados como media ± desviación estándar (o mediana y rango intercuartílico según distribución) o frecuencia absoluta (y relativa si procede) según el tipo de variable. DA indica arteria descendente anterior; CX, arteria circunfleja; CD, arteria coronaria derecha; ICP, intervencionismo coronario percutáneo (tratamiento de reperfusión); IECA, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

Los datos angiográficos seriados se exponen en la Tabla 6, incluyendo sólo a los 59 pacientes con stent. Es importante reseñar que la pérdida luminal tardía fue inferior con el uso de stents fármacoactivos (0.35 ± 0.66 vs 0.71 ± 0.38 mm; $P=0.011$). Se realizó un análisis multivariable para determinar predictores independientes de pérdida luminal en el seguimiento (ver apartado Análisis Estadístico), incluyéndose finalmente en el modelo el diámetro de referencia previo a la revascularización (pre-ICP), la ganancia aguda, la longitud de la lesión, el porcentaje de células CD117+ y CD 133+ implantadas, la diabetes mellitus y el tipo de stent implantado. De entre todas ellas, únicamente el tipo de stent (Beta: -0.32; IC95%: -0.57–-0.26; $p=0.03$) y el diámetro de referencia pre-ICP (Beta: 0.29; IC95%: 0.04–0.54; $p=0.02$) se relacionaron de forma significativa con la pérdida luminal tardía, mientras que la presencia de diabetes no llegó a alcanzar significación estadística (Beta: 0.36; 95% CI: -0.24–0.76; $p=0.06$). En otras palabras, el uso de stent farmacoactivos y un diámetro de referencia menor previo a la revascularización se asociaron a una menor pérdida luminal en el seguimiento.

Tabla 6. Datos angiográficos seriados según tipo de stent.

	Stent convencional (n=37)	Stent farmacoactivo (n=22)	p
Pre-ICP			
Edad (años)	59±12	59±11	0.96
Diámetro de referencia (mm)	3.11±0.51	2.85±0.51	0.06
DLM (mm)	0.83±0.81	1.02±1.07	0.45
% estenosis	73.0±26.1	61.1±39.8	0.22
Morfología de la lesión:			0.41
Tipo A/B1	3 (8%)	4 (18%)	
Tipo B2/C	34 (92%)	18 (82%)	
Longitud de la lesión* (mm)	15.1±6.1	25.9±13.1	0.008
Postimplante celular inmediato			
Ganancia aguda (mm)	1.86±0.90	1.43±1.05	0.10
Diámetro de referencia (mm)	3.11±0.39	3.00±0.37	0.35
DLM (mm)	2.69±0.44	2.45±0.60	0.08
% estenosis	12.7±13.1	18.7±16.6	0.13
Longitud de la lesión† (mm)	19.3±10.1	24.9±12.9	0.07
Seguimiento 6-9 meses			
Diámetro de referencia (mm)	2.92±0.43	2.74±0.37	0.11
DLM (mm)	1.99±0.45	2.10±0.70	0.50
% estenosis	30.9±12.2	25.4±15.3	0.13
Pérdida luminal tardía (mm)	0.71±0.38	0.35±0.66	0.01

Valores expresados como media ± desviación estándar o frecuencia absoluta (y relativa) según tipo de variable. ICP indica Intervencionismo Coronario Percutáneo (revascularización del infarto); DLM, Diámetro Luminal Mínimo. *La longitud de la lesión se midió solo cuando la arteria culpable no presentaba oclusión completa (24 de 37 pacientes con stent convencional, y 15 de 22 con stent farmacoactivo). †Longitud de la lesión medida en todos los casos.

En un subgrupo de 30 pacientes incluidos de forma consecutiva en el estudio (57±11 años, 28 varones), realizamos además un estudio mediante IVUS, basal y en el seguimiento, con el objeto de evaluar más objetivamente el grado de reestenosis y el desarrollo de hiperplasia neointimal (Figura 11). El número de stents implantados en estos pacientes fue de 1.5±0.8 stents (rango 1 a 4), siendo convencionales en 12

casos y farmacoactivos en los 18 restantes (13 rapamicina, 4 paclitaxel, 1 tacrolimus). La longitud nominal de los stent fue 32.1 ± 17.6 mm y el diámetro nominal 3.3 ± 0.3 mm. La medición angiográfica mostró una longitud media tratada de 29.1 ± 14.5 mm y un diámetro de 3.37 ± 0.47 mm, sin que existiesen diferencias en ambos parámetros basales según el tipo de stent implantado.

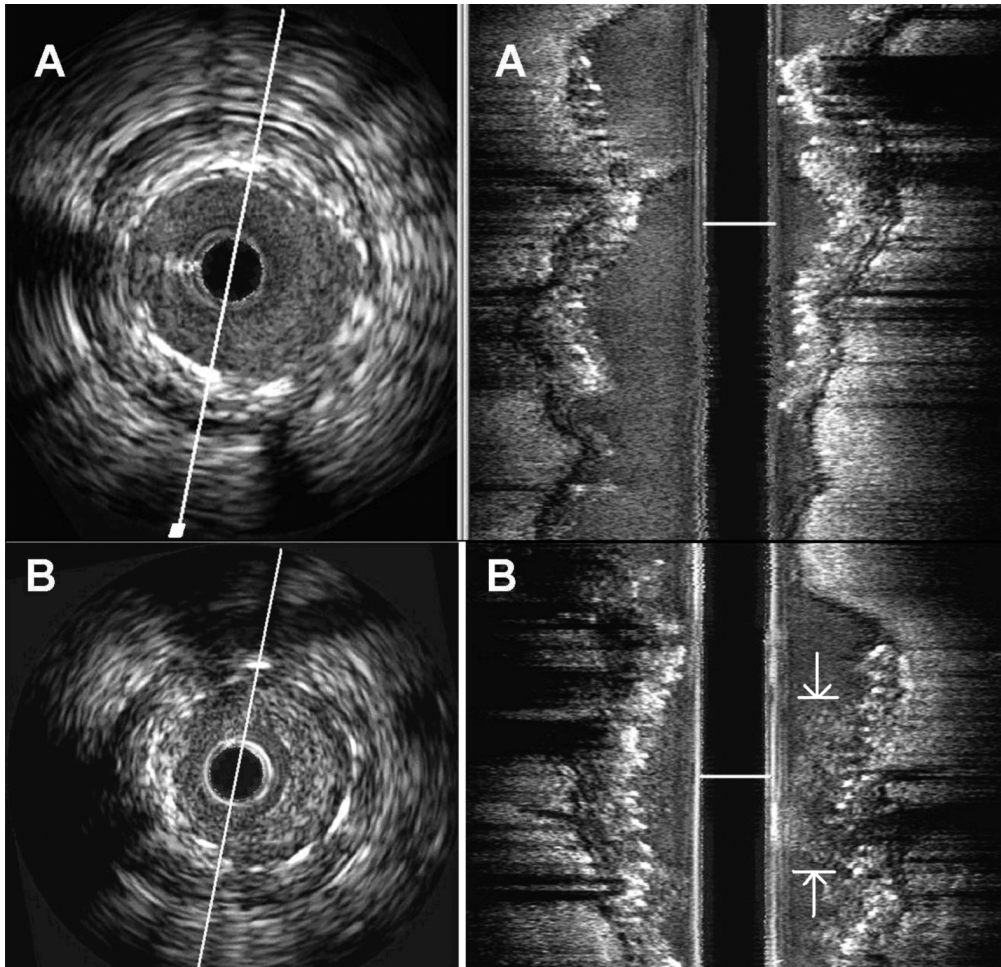


Figura 11. Imágenes seriadas de IVUS procedentes del mismo paciente inmediatamente tras la inyección celular (A) y en el cateterismo de seguimiento (B). Entre las flechas blancas (B, cuadrante inferior derecho) se puede observar desarrollo de hiperplasia neointimal difusa intrastent.

En el seguimiento, aunque la reducción del volumen del vaso en el borde distal del stent fue significativamente mayor que la del borde proximal (-6.1 ± 12.0 vs -1.2 ± 10.6 mm³; $p=0.04$), no se acompañó de ninguna otra diferencia el el resto de parámetros calculados por IVUS, particularmente en la progresión del volumen de la placa de ateroma que fue similar en ambos bordes (Tabla 7).

Tabla 7. Evolución de parámetros de IVUS medidos en los bordes proximal y distal del stent en lesión culpable en el seguimiento a 6-9 meses.

	Borde proximal	Borde distal	p
Δ Área de estenosis (%)*	3.86±7.2	3.67±9.9	0.93
Δ Volumen luminal (mm ³)	0.02 (-6.0 – 3.7)	-4.4 (-10.8 – -0.7)	0.26
Δ Volumen del vaso (mm ³)	-1.2±10.6	-6.1±12.0	0.046
Δ Volumen de placa (mm ³)	1.6 (-2.1 – 6.4)	1.0 (-4.3 – 3.6)	0.21

Valores expresados como media ± desviación estándar ó mediana (y rango intercuartílico) según la distribución de la variable cuantitativa. Δ indica cambios calculados entre los exámenes de IVUS basal y de seguimiento. *Calculado a nivel del punto con area luminal mínima (máxima estenosis).

Al comparar en el seguimiento los parámetros de ecografía intravascular entre ambos tipos de stent (Tabla 8), convencional vs. farmacoactivo, este último redujo significativamente la incidencia de hiperplasia neointimal (incremento de volumen de hiperplasia neointimal 35.9 [22.0 – 43.6] vs. 5.4 [2.7 – 28.1] mm³; p=0.035).

Tabla 8. Evolución de los parámetros de ecografía intravascular (IVUS) intrastent en el seguimiento en función del tipo de stent implantado.

	Borde proximal	Borde distal	p
Δ área luminal media (mm ²)	-1.27 (-3.41 – -0.93)	0.01 (-0.42 – 0.19)	0.009
Δ diámetro luminal mínimo (mm)*	-0.72±0.43	-0.27±0.43	0.012
Δ área luminal mínima (mm ²)	-2.44 (-3.22 – -1.77)	-0.27 (-1.84 – 0.12)	0.008
Δ volumen luminal (mm ³)	-25.6 (-51.9 – -12.7)	4.4 (-24.4 – 10.3)	0.050
Δ volumen de hiperplasia neointimal (mm ³)	35.9 (22.0 – 43.6)	5.4 (2.7 – 28.1)	0.035
Δ índice de volumen neointimal (mm ³ /mm)	2.21 (1.80 – 2.99)	1.06 (0.81 – 1.58)	0.013
Obstrucción de volumen neointimal en el seguimiento (%)	26.7 (21.6 – 34.7)	13.1 (10.0 – 17.1)	0.007

Valores expresados como mediana (y rango intercuartílico entre paréntesis). Δ indica variaciones entre parámetros basales y en el seguimiento mediante estudio IVUS intracoronario. * Pérdida luminal tardía (*late loss*).

5.5. Progresión de la aterosclerosis coronaria: vaso distal y arteria contralateral²⁹⁸

En un subgrupo de 37 pacientes incluidos de forma consecutiva en el estudio (60 ± 10 años, 33 varones), realizamos una evaluación angiográfica exhaustiva del segmento de arteria culpable distal a la lesión reparada, así como en la arteria contralateral, para cuantificar la progresión de la enfermedad coronaria mediante determinados parámetros angiográficos (evolución en el seguimiento del diámetro de referencia, diámetro luminal mínimo y porcentaje de estenosis respecto al diámetro de referencia). Los resultados se compararon con los de un grupo control contemporáneo emparejado (37 pacientes del estudio *GRACIA-3*)²⁹⁶, sometidos a similar estrategia de reperusión tras un infarto agudo de miocardio. En la Tabla 9 se exponen las características basales de ambos grupos, donde puede observarse un adecuado emparejamiento de ambos grupos salvo por la localización anterior del infarto, más frecuente en el grupo control.

Tabla 9. Datos demográficos, clínicos y tratamiento al alta de ambos grupos en el subestudio de progresión de aterosclerosis coronaria en vaso distal de arteria culpable y en arteria contralateral.

	Grupo control	Grupo tratado con CMNMOA	p
N	37	37	
Edad (años)	60±10	59±11	0.64
Sexo, varón	33 (89%)	34 (92%)	0.99
Hipertensión arterial	9 (24%)	11 (30%)	0.60
Tabaquismo activo	22 (59%)	20 (54%)	0.63
Diabetes mellitus	5 (13%)	7 (19%)	0.52
Hipercolesterolemia	13 (35%)	8 (22%)	0.19
Nº de FRCV			0.68
0	5 (13%)	8 (22%)	
1	20 (54%)	16 (43%)	
2	7 (19%)	9 (24%)	
3	5 (13%)	4 (11%)	
Stent farmacoactivo	22 (59%)	22 (59%)	0.99
Infarto de localización anterior	15 (40%)	27 (73%)	0.005
FEVI basal (%)	50±10	48±11	0.45
Aspirina	37 (100%)	35 (95%)	0.49
Clopidogrel	36 (97%)	33 (89%)	0.35
Betabloqueantes	34 (92%)	36 (97%)	0.61
Calcioantagonistas	0 (0%)	1 (3%)	0.99
IECA	24 (65%)	24 (65%)	0.99
ARA-II	0 (0%)	2 (5%)	0.49
Nitratos	1 (3%)	0 (0%)	0.99
Estatinas	28 (76%)	34 (92%)	0.58

Valores expresados como media ± desviación estándar o frecuencia absoluta (y relativa) según el tipo de variable. FRCV indica factores de riesgo cardiovascular; FEVI, fracción de eyección ventricular izquierda; IECA, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II, antagonistas del receptor de la angiotensina-II.

Los datos basales del segmento distal de arteria culpable en ambos grupos se describen en la Tabla 10. La longitud del segmento coronario analizado era ligeramente mayor en el grupo tratado con células. Con respecto al análisis de la arteria contralateral, no había diferencias basales en las características angiográficas de los segmentos analizados entre ambos grupos (Tabla 11).

Tabla 10. Datos angiográficos basales en segmento distal de arteria culpable.

	Grupo control (n=37)	Grupo tratado (n=37)	p
Longitud analizada (mm)	39.8±9.6	48.0±14.2	0.05
Diámetro medio del segmento (mm)	1.97±0.43	1.93±0.36	0.68
DLM (mm)	1.50±0.46	1.40±0.37	0.25
Diámetro de referencia (mm)	2.00±0.48	1.95±0.49	0.68
Porcentaje de estenosis*	25.4±10.9	28.6±9.7	0.21

Valores expresados como media ± desviación estándar. DLM indica diámetro luminal mínimo. *El porcentaje de estenosis se calculó respecto al diámetro de referencia del vaso.

Tabla 11. Datos angiográficos basales en arteria contralateral.

	Grupo control (n=36)	Grupo tratado (n=36)	p
Longitud analizada (mm)	39.8±9.6	48.0±14.2	0.05
Longitud analizada (mm)	56.5±13.6	51.3±19.9	0.22
Diámetro medio del segmento (mm)	2.77±0.88	2.85±0.68	0.68
DLM (mm)	1.98 [1.44-2.48]	2.13 [1.72-2.44]	0.40
Diámetro de referencia (mm)	2.86±0.92	2.96±0.67	0.54
Porcentaje de estenosis*	29.1±11.2	27.5±9.9	0.48

Valores expresados como media ± desviación estándar o mediana (y rango intercuartílico) según distribución de la variable. DLM indica diámetro luminal mínimo. *El porcentaje de estenosis se calculó respecto al diámetro de referencia del vaso.

En cuanto al seguimiento, no se hallaron diferencias en ninguno de los parámetros angiográficos analizados relacionados con la progresión de la enfermedad aterosclerótica, tanto en el vaso distal de arteria culpable como en el contralateral (Tabla 12). Aunque la desviación estándar y el rango de dichos parámetros son considerables, no existe ningún dato clínicamente relevante que indique una aceleración en el crecimiento o progresión de placas de ateroma en los pacientes que se sometieron a terapia celular. Ninguno de los pacientes en ambos grupos desarrolló lesiones de novo significativas en el segmento distal al stent.

Tabla 12. Datos de evolución angiográfica en segmento distal de arteria culpable y en arteria contralateral.

Vaso distal de arteria culpable					
	Grupo control (n=37)	Grupo tratado (n=37)	Dif. media	IC95%	p
Δ DLM (mm)	0.06±0.40	0.01±0.42	-0.05	-0.24 a 0.12	0.54
Δ DR (mm)	0.05±0.44	-0.06±0.43	-0.10	-0.29 a 0.10	0.26
Δ % de estenosis*	-1.78±8.75	-2.68±12.3	-0.90	-5.48 a 3.68	0.69

Vaso distal de arteria culpable					
	Grupo control (n=36)	Grupo tratado (n=36)	Dif. media	IC95%	p
Δ DLM (mm)	-0.06±0.35	-0.004±0.54	0.06	-0.18 a 0.30	0.63
Δ DR (mm)	-0.11±0.37	-0.002±0.48	0.10	-0.11 a 0.32	0.31
Δ % de estenosis*	-0.46 [-0.68 a 3.12]	-0.98 [-8.14 a 4.57]	-2.18	-6.11 a 7.56	0.78

Valores expresados como media ± desviación estándar o mediana (y rango intercuartílico) según la distribución de la variable. Δ indica variación en el parámetro en el seguimiento respecto al valor basal; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; DLM, diámetro luminal mínimo; DR, diámetro de referencia. *El porcentaje de estenosis se calculó respecto al diámetro de referencia del vaso.

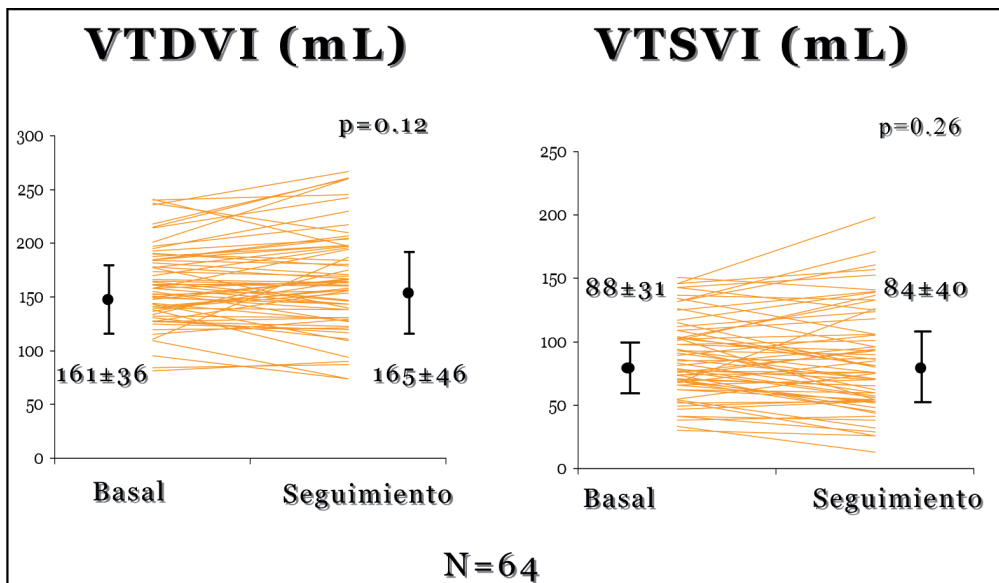
5.6. Evolución de los parámetros de función microvascular

En el seguimiento angiográfico se constató una mejoría en los parámetros de perfusión miocárdica. Así se constató un flujo TMPG grado 3 en 48 (66.7%) en el seguimiento angiográfico en comparación con 37 pacientes (51.4%) postimplante, sin alcanzar significación estadística (p=0.06). El estudio de reserva del flujo coronario con guía de presión, en el seguimiento se detectó un descenso del FFR sin valor clínico respecto al basal inmediatamente tras la inyección celular (0.91±0.05 vs 0.88±0.05; p=0.004), en ambos casos siempre en el rango de normalidad. Por el contrario el CFR medido con sonda de doppler intracoronario presentó una tendencia positiva en el límite de la significación (1.91±0.99 vs 2.34±1.12; p=0.06). No observamos diferencias en ambos parámetros (FFR y CFR) entre el grupo tratado con stent convencionales o recubierto de fármacos.

5.7. Evolución del remodelado ventricular

Fue posible hacer un seguimiento del remodelado ventricular mediante resonancia magnética en 64 (89%) pacientes (3 pacientes rehusaron someterse a la resonancia del seguimiento, en 3 pacientes la misma no se pudo realizar por tener un desfibrilador automático implantable, y en 2 pacientes aunque se realizó no se pudo analizar en el laboratorio de imagen centralizado debido a defectos en el proceso de grabación).

La resonancia magnética mostró los siguientes parámetros basales del ventrículo izquierdo: volumen telediastólico de 161 ± 36 ml, volumen telesistólico de 87 ± 31 ml, fracción de eyección del $47 \pm 10\%$. En el seguimiento (Figura 12) no hubo diferencias en el volumen telediastólico (166 ± 46 ml; $p=0.12$), ni telesistólico (84 ± 40 ml; $p=0.26$). Sin embargo, la fracción de eyección ventricular izquierda se incrementó significativamente de $47 \pm 10\%$ a $51 \pm 12\%$ ($p<0.001$). Asimismo, el movimiento y grosor regional del área infartada mejoraron significativamente. El índice de motilidad regional (IMR) se incrementó de 1.53 ± 0.29 a 1.40 ± 0.38 , $P=0.001$ y el grosor regional global de 0.8 ± 1.7 a 1.4 ± 1.5 mm, $P=0.005$. Este último a expensas de una mejoría significativa en el grosor sistólico (de 6.5 ± 2.1 a 7.4 ± 3.0 mm, $P=0.004$) respecto al diastólico (de 5.7 ± 1.8 a 6.0 ± 1.9 mm; $P=0.34$). La utilización de stents desnudos o recubiertos no modificó la evolución de los parámetros ventriculares.



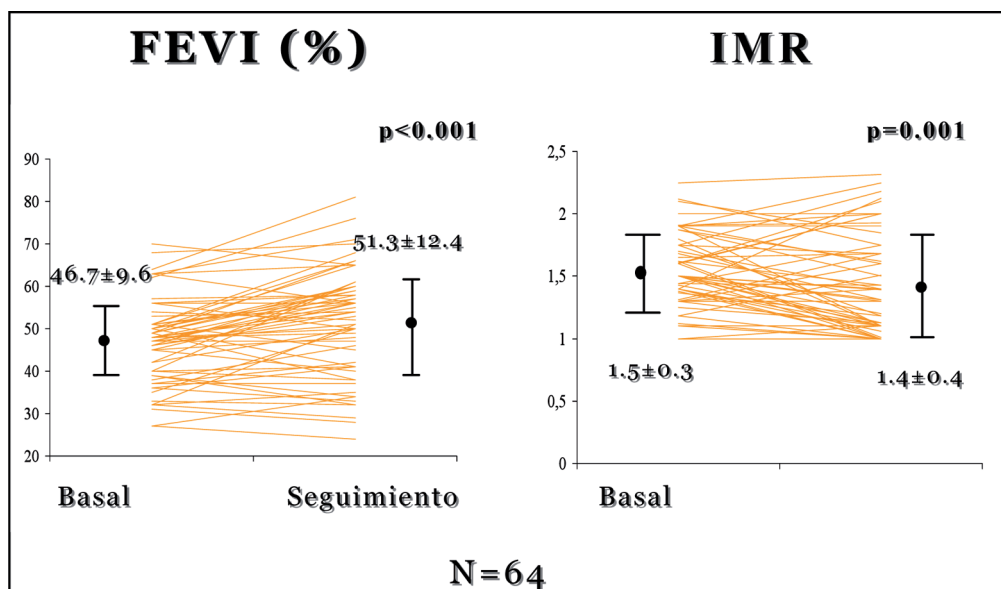


Figura 12. Evolución de parámetros relacionados con el remodelado ventricular postinfarto (volúmenes telediastólico y telesistólico, FEVI e IMR) evaluados con cardiorresonancia magnética.

Del mismo modo que con los estudios de cardiorresonancia, se evaluaron parámetros de remodelado ventricular mediante ventriculografía izquierda con contraste. Fue posible obtener ambas ventriculografías, basal y de seguimiento, en 56 pacientes (16 no disponibles por rechazo del paciente a nueva valoración invasiva o problemas técnicos en el proceso de grabación). La FEVI se incrementó de un modo significativo desde $48.6 \pm 11.2\%$ basal hasta 54.0 ± 14.3 ($p < 0.001$). Del mismo modo, la motilidad regional en el área infartada mejoró en el seguimiento (DE/cuerda -1.4 ± 0.4 vs -1.15 ± 0.7 ; $p = 0.001$). Sin embargo, el volumen telediastólico estimado mostró una tendencia no significativa a crecer (139 ± 33 vs 146 ± 40 ml; $p = 0.07$) mientras que el telesistólico no se modificó (72 ± 27 vs 71 ± 39 ml; $p = 0.72$).

Aunque fuera de protocolo, en los 29 pacientes que pertenecían al Área de Salud del Hospital Clínico Universitario de Valladolid se realizó un seguimiento de imagen por resonancia magnética cardíaca a largo plazo (27 [24-35] meses).²⁹⁹ No existían diferencias significativas en las características basales y relacionadas con el procedimiento de implante celular entre los pacientes con seguimiento a largo plazo y aquellos que no lo realizaron. En cuanto a los resultados (Figuras 13 y 14), no observamos diferencias estadísticamente significativas en los volúmenes telediastólico ni telesistólico del ventrículo izquierdo entre los tres estudios (basal, 6-9 meses y largo plazo). Se detectó una mejora significativa en el índice de motilidad regional a los 6-9 meses

respecto al basal (1.35 ± 0.36 vs 1.52 ± 0.32 ; $p=0.004$); no obstante, esta mejora no se observó a largo plazo (1.43 ± 0.34 ; $p=0.35$ frente a basal). En cuanto a la FEVI, se observó en este subgrupo de pacientes una mejora significativa a los 6-9 meses respecto a situación basal (52.7 ± 11.6 vs $47.6 \pm 8.9\%$; $p=0.001$), que se mantuvo a largo plazo ($52.4 \pm 11.8\%$; $p=0.01$ vs basal, y $p=0.999$ vs 6-9 meses).

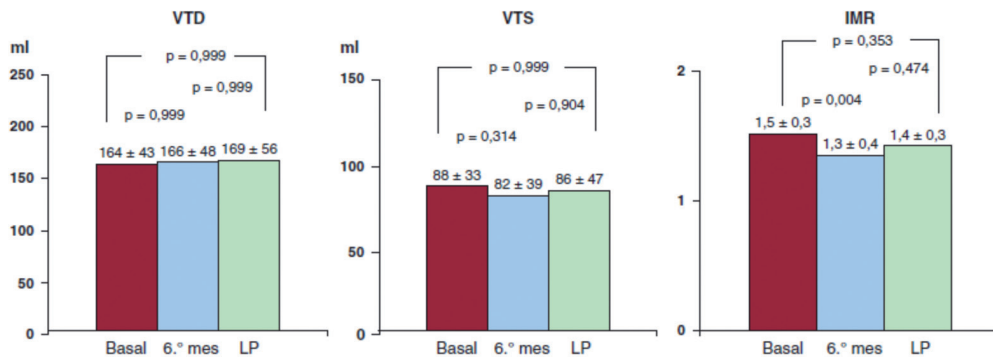


Figura 13. Evolución de los parámetros de función ventricular a corto y largo plazo. IMR indica índice de motilidad regional; LP, largo plazo; VTD, volumen telediastólico; VTS, volumen telesistólico. Adaptado de *Revilla A et al.*²⁹⁹

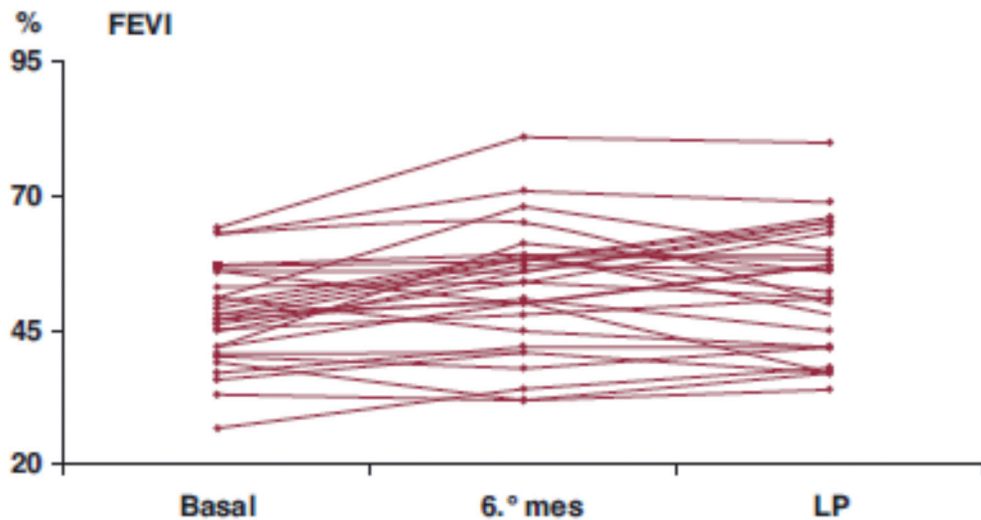


Figura 14. Evolución de la FEVI a corto y largo plazo. LP indica largo plazo. Adaptado de *Revilla A et al.*²⁹⁹

5.8. Impacto de la presencia de obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular izquierdo²⁶¹

Se seleccionaron 14 pacientes consecutivos (edad 59 ± 12 años, todos varones), los cuales completaron la valoración funcional de ventrículo izquierdo (cinerresonancia) con un estudio de viabilidad con realce tardío con gadolinio. En las imágenes de realce tardío de contraste se cuantificó el tamaño del infarto mediante planimetría manual del área de hipercaptación de contraste en los planos de eje corto de VI. También se analizó la presencia de OMP, definida como una zona de hipocaptación de contraste en el centro de la zona infartada (Figura 15).

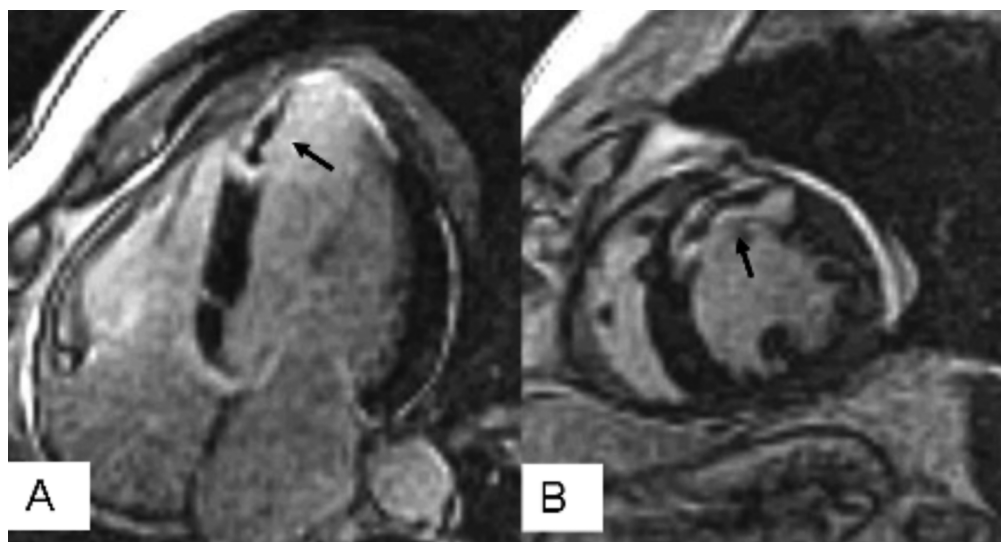


Figura 15. Imágenes de cortes 4 cámaras (A) y eje corto mesoventricular (B) del estudio de resonancia magnética cardíaca basal de un mismo paciente. Indicada con una flecha negra se visualiza un área con OMP (señal hipointensa localizada en el seno de una región infartada con realce de señal).

En función del estudio de realce tardío basal, fueron divididos los pacientes en dos grupos: presencia de OMP (5 pacientes) y ausencia de OMP (9 pacientes). No se hallaron diferencias significativas entre grupos en cuanto a variables demográficas, localización del infarto, cifra máxima de creatín-fosfoquinasa, tratamiento de reperfusión recibido, uso de bloqueadores IIb/IIIa, tratamiento farmacológico al alta y variables relacionadas con el procedimiento de trasplante celular como el tiempo al trasplante, número de células mononucleadas implantadas y fenotipo celular de éstas (Tabla 13).

Tabla 13. Análisis comparativo de datos demográficos, características del infarto y procedimiento de implante celular entre grupos en función de la presencia de obstrucción microvascular persistente (OMP) en la resonancia magnética cardiaca.*

Todos (n=14)	Grupo tratado (n=5)	Sin OMP (n=5)	
Características basales			
Edad (años)	59±12	52±11	62±11
Hipertensión	4 (29%)	2 (40%)	2 (22%)
Dislipemia	3 (21%)	2 (40%)	1 (11%)
Diabetes	3 (21%)	1 (20%)	2 (22%)
Tabaquismo activo	7 (50%)	3 (60%)	4 (44%)
Características del infarto			
Localización anterior	11 (79%)	4 (80%)	7 (78%)
Pico de CPK total (U/l)	2.000 (947-3668)	3.668 (1331-7888)	1.804 (947-2916)
Tiempo de isquemia (minutos)	147 (90-780)	195 (90-960)	135 (95-180)
Estrategia de reperfusión:			
Angioplastia primaria	3 (21%)	1 (20%)	2 (22%)
Angioplastia posttrombolisis	11 (79%)	4 (80%)	7 (78%)
Flujo TIMI epicárdico[†]:			
0-1	5 (36%)	2 (40%)	3 (33%)
2-3	9 (64%)	3 (60%)	6 (67%)
Presencia de colaterales [‡]	4 (29%)	1 (20%)	3 (33%)
Tratamiento:			
Abciximab	8 (57%)	3 (60%)	5 (56%)
IECA	8 (57%)	2 (40%)	6 (67%)
Betabloqueante	13 (93%)	5 (100%)	8 (89%)
Datos del implante celular			
Días hasta el implante	8±2	8±3	7±1
Dosis (nº células ×106)	66±39	66±23	66±47
Fenotipo celular (%):			
CD 34+	1.29±0.85	1.45±1.12	1.21±0.72
CD117+	2.60±1.30	2.96±1.43	2.41±1.26
CD133+	0.87±0.52	0.97±0.69	0.82±0.45

Variables numéricas expresadas como media±desviación estándar o mediana y rango intercuartílico según distribución. Variables categóricas como frecuencia absoluta y relativa. CPK indica creatín-fosfoquinasa; IECA, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina. *P-valor no significativo en todos los casos (con OMP vs sin OMP). [†]Flujo TIMI epicárdico en arteria culpable en la coronariografía realizada al ingreso. [‡]Valorada según la clasificación de *Rentrop KP et al.*³⁰⁰ todos los pacientes con colaterales presentaban un grado 1 (débil visualización de colaterales que llegan a la arteria coronaria receptora), el resto grado 0 (no se visualizan colaterales).

En cuanto al impacto inmediato del infarto según la resonancia magnética basal, se detectó en el grupo de pacientes con OMP una tendencia a presentar un mayor tamaño del infarto, mayores volúmenes ventriculares y peor función sistólica global y regional de VI (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis comparativo entre grupos en función del impacto inmediato del infarto en parámetros del estudio de cardi resonancia basal.

	Todos (n=14)	Con OMP (n=5)	Sin OMP (n=9)
MV(gramos)	128±26	142±28	121±24
Tamaño del infarto (gramos)	42±19	52±17	37±19
Tamaño del infarto (% de MV)	32±12	36±7	30±13
Grosor telediastólico (mm) [†]	5.0±1.0	5.3±0.8	4.9±1.0
Volumen telediastólico (ml)	165±27	176±28	158±25
Volumen telesistólico (ml)	89±23	103±22	82±21
Fracción de eyección (%)	46±8	42±6	49±8
Índice de motilidad regional	1.6±0.3	1.8±0.3	1.5±0.3

Variables numéricas expresadas como media±desviación estándar. MV indica masa ventricular izquierda total; OMP, obstrucción microvascular persistente. *P-valor no significativo en todos los casos (con OMP vs sin OMP).

[†]Medido en el segmento infartado de mínimo grosor.

En el conjunto de pacientes de este subestudio, la fracción de eyección de VI presentó una tendencia a mejorar en el seguimiento (FEVI basal 46±8% vs seguimiento 51±11%; p=0.10). Asimismo, hubo una reducción significativa en el tamaño del infarto valorado por realce tardío tanto en masa absoluta (basal 42±19 g vs seguimiento 26±15 g; p=0.001) como relativa respecto a la masa global de VI (basal 32±11% vs seguimiento 23±11%; p=0.001). La imagen de OMP no se observó en ningún caso en los estudios de seguimiento de resonancia.

En el análisis comparativo entre grupos, no se halló una diferencia significativa entre los pacientes con y sin OMP en el incremento en la FEVI (2±12 vs 6±8%; p=0.5) ni en la reducción del tamaño del infarto en el seguimiento (-16±4 g vs -16±9 g; p=0.97). Sin embargo, la presencia de OMP se relacionó en el seguimiento con un remodelado ventricular adverso, caracterizado por una evolución de los volúmenes ventriculares desfavorable y opuesta a la de aquellos sin OMP, siendo significativa (p<0.037) la variación en el volumen telediastólico de VI, no así la del volumen telesistólico (Figura 16).

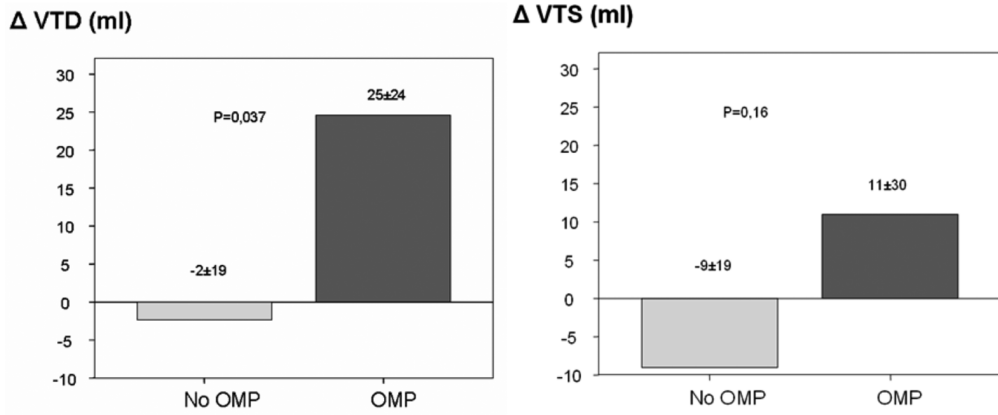


Figura 16. Variación del volumen telediastólico (VTD) y telesistólico (VTS) ventricular izquierdo en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.

A su vez, se detectó en los pacientes con OMP una ausencia de incremento en el grosor telediastólico de la pared infartada (Figura 17), en claro contraste con la evolución de los pacientes sin OMP ($p < 0.027$).

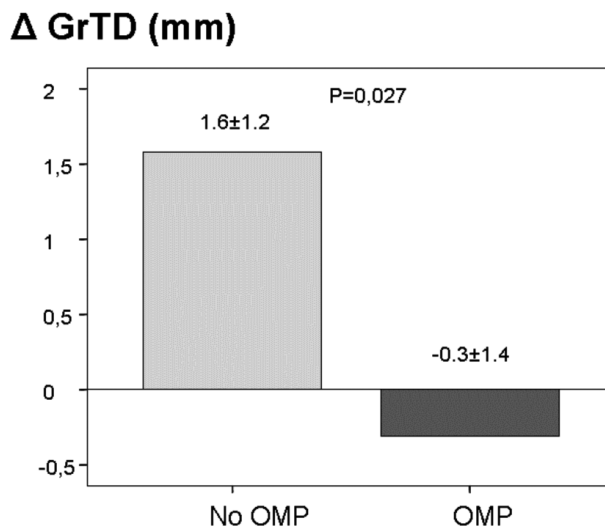


Figura 17. Variación del grosor telediastólico de la pared infartada (GrTD) en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.

Además, únicamente aquellos pacientes sin OMP mostraron en el seguimiento una reducción significativa en el número de segmentos acinéticos o discinéticos respecto al estudio basal (Figura 18).

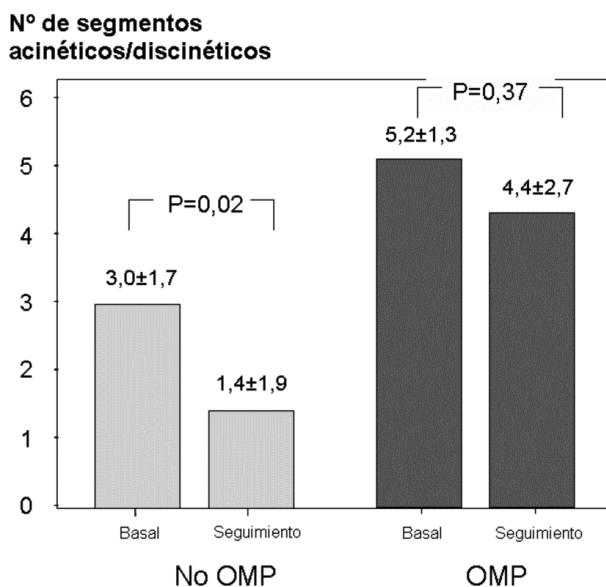


Figura 18. Número de segmentos acinéticos o discinéticos en el análisis regional de la contractilidad basal y en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.

6. Discusión

6. DISCUSIÓN

Nuestros resultados confirman que el trasplante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes que han sufrido un infarto agudo de miocardio extenso y que se han sometido previamente a terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario, es una técnica factible y una terapia segura a corto y largo plazo. Asimismo, el análisis de la evolución de parámetros de remodelado ventricular y flujo coronario nos hace albergar esperanzas sobre la posibilidad de que dicho tratamiento contribuya a la recuperación de la función contráctil global y regional y de la perfusión microvascular.

A continuación, de una manera detallada, se discutirá sobre cada uno de los objetivos planteados en este proyecto y los resultados alcanzados.

6.1. Factibilidad y seguridad del procedimiento

a) Factibilidad del procedimiento de implante celular.

En primer lugar, nuestros resultados corroboran que la implantación por vía intracoronaria de células madre derivadas de la médula ósea del mismo paciente, en regiones que han sufrido un infarto agudo de miocardio, es una técnica factible. En todos los pacientes candidatos que se incluyeron en el estudio fuimos capaces de realizar el proceso de selección y procesamiento celular sin ninguna complicación o dificultad añadida. Asimismo, el implante celular pudo ser realizado por diferentes cardiólogos intervencionistas, siendo el procedimiento sencillo en lo referente a la utilización de balones de inflado, guías de dirección y catéteres.

Es importante reseñar que la composición de un grupo integrado de profesionales de diferentes especialidades resultó fundamental en la factibilidad, tanto del procedimiento de implante celular como del proyecto en su conjunto.³⁰¹ Así, el grupo de trabajo participante en este estudio se compuso de:

- Cardiólogos clínicos responsables de la selección, identificación y seguimiento de este tipo de pacientes (Instituto de Ciencias del Corazón, Hospital Clínico Universitario de Valladolid).
- Hematólogos, coordinados desde su departamento, responsables de la extracción y procesamiento celular (Unidad de Trasplante de progenitores hema-

topoyéticos de sangre periférica y/ó médula ósea del Hospital Río Hortega de Valladolid).

- Científicos básicos (biólogos y técnicos de laboratorio), coordinados desde un centro experimental de prestigio (Instituto de Biología y Genética Molecular de la Universidad de Valladolid), responsables de los modelos experimentales previos al inicio del proyecto clínico presentado, y de controlar la viabilidad y naturaleza del material celular inyectado.
- Cardiólogos intervencionistas, coordinados por el responsable del laboratorio de hemodinámica del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, encargados de la técnica de inyección celular y las técnicas derivadas en la valoración de seguridad y eficacia.
- Cardiólogos especializados en imagen cardíaca, radiólogos e investigadores en imagen experimental, coordinados desde el Servicio de Cardiología, responsables de la evaluación de la seguridad y eficacia del procedimiento utilizando objetivos *subrogados*.

b) Seguridad del procedimiento.

Con respecto a la seguridad del procedimiento, aunque en términos generales sólo puede establecerse de un modo definitivo tras reclutarse miles de pacientes y con un espectro clínico amplio (diferente gravedad de la enfermedad de base), nuestro estudio (fase I) permite afirmar que la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga tras un infarto agudo de miocardio es una técnica segura.

En nuestra experiencia prestamos especial atención al impacto inmediato del implante celular sobre la perfusión microvascular. Teniendo en cuenta la disfunción microvascular que se produce en el infarto agudo de miocardio, estudios previos sugerían que la inyección intracoronaria de células mononucleadas podría deteriorar la perfusión coronaria. Dicha teoría surgió al ponerse de manifiesto que las células mesenquimales, de mayor tamaño que las utilizadas en nuestra experiencia, producían daño microvascular y microinfartos en modelos caninos.²⁶² Asimismo, *Kang et al.* constataron un incremento discreto en los marcadores de daño miocárdico tras la inyección intracoronaria de células mononucleadas, similares a las nuestras, procedentes de médula ósea.¹⁹⁵ Por el contrario, en nuestra experiencia no observamos incremento en los marcadores de daño miocárdico tras la inyección intracoronaria

(TnT y CK-MB), ni modificaciones en parámetros de perfusión microvascular evaluados mediante guía de presión (FFR) y doppler intracoronarios (CFR) inmediatamente antes y después del implante celular.

Estos hallazgos coinciden con el resto de estudios clínicos que han utilizado células mononucleadas,^{184,186-189,197,201,203,206,207,210,213,215-219,234,302} en los que no se han descrito problemas agudos de este tipo en relación con el procedimiento.

6.2. Seguridad a corto y largo plazo tras el implante celular. Evolución clínica de los pacientes

El seguimiento clínico de los pacientes a largo plazo fue también plausible (media de 40 ± 10 meses). Es destacable que en la literatura disponible, esta modalidad de terapia celular cuenta tan solo con 188 pacientes con seguimientos superiores a 36 meses (3 años), provenientes de 4 estudios, el publicado por *Cao et al.* (4 años)²¹⁹, y con 5 años el *BALANCE*,²¹⁸ el *TOPCARE-AMI*,²³⁶ y el *BOOST*.²⁷⁷ Como ya se señaló previamente, dichos estudios dejan lagunas importantes con respecto a la seguridad a largo plazo por varios motivos:

a) Bajísima incidencia de eventos adversos en el estudio de *Cao et al.*, con un solo caso de reestenosis intrastent tratada con intervencionismo percutáneo en el primer año, y un ingreso precoz por insuficiencia cardíaca en el grupo sometido a tratamiento activo con células mononucleadas tras un IAMSTE tratado con angioplastia primaria.²¹⁹ El sesgo de selección (pacientes de bajo riesgo), reconocido por sus autores, limita enormemente la validez externa de sus hallazgos en lo referente a complicaciones tanto precoces como tardías. Lo mismo es aplicable al estudio *BALANCE* y al *TOPCARE-AMI*, con los seguimientos más prolongados publicados hasta la fecha (5 años). Los autores reportan tan sólo 1 caso de fallecimiento entre 62 y 55 tratados respectivamente.^{218,236} Con una incidencia de sucesos adversos más próxima a la de nuestro estudio se encuentra el ensayo *BOOST*, con 30 pacientes tratados con terapia celular que presentaron a los 61 meses una supervivencia libre del suceso combinado muerte, reinfarto o nueva hospitalización por insuficiencia cardíaca del 83%.²⁷⁷

b) Información incompleta, como en el caso del *BALANCE*, cuyos autores no ofrecen más datos en cuanto a tasa de reinfarto, reestenosis, revascularizaciones, arritmias u otros eventos adversos.²¹⁸

En este contexto, nuestro estudio completa información no disponible a partir de otros ensayos clínicos. La evolución clínica de los pacientes estudiados fue satisfactoria. Únicamente 13 pacientes (17%) presentaron un acontecimiento adverso grave, tres de los cuales fueron fallecimientos de causa no cardíaca (4%), y el resto hospitalizaciones por patología cardiovascular (3 por arritmias ventriculares, 3 por reinfarto, 2 por angina inestable, 1 por insuficiencia cardíaca, 1 por accidente isquémico transitorio). De esta forma, a los 5 años de seguimiento la probabilidad de supervivencia libre de acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares graves (MACCE: muerte, reinfarto, revascularización de vaso culpable o ataque cerebral) o del suceso combinado muerte u hospitalización de causa cardíaca se situó en torno al 80%.

Esta cifra está muy por debajo de lo observado en la práctica habitual, como el caso del registro *PRIAMHO II*, que mostró una mortalidad al año del IAMSTE del 16.5%.³⁰³ La razón es común al resto de estudio realizados, existiendo un sesgo de selección importante, reclutándose enfermos fuera de la fase hiperaguda (supervivientes) y con buena evolución clínica. No obstante, los sucesos adversos registrados en nuestros pacientes muestran un perfil de riesgo más realista que el de otros ensayos clínicos en terapia celular, y nos permiten explorar eventuales riesgos a tener en cuenta en proyectos futuros (p.ej. arritmogenicidad). Por tanto, aunque resultan tranquilizadoras estas cifras y en el objetivo clínico compuesto analizado podemos concluir que esta técnica es segura, será preciso esperar a futuros ensayos en humanos diseñados con objetivos clínicos para conocer si esta terapia se asocia a determinadas complicaciones en función del riesgo basal del paciente, y si finalmente resulta eficaz disminuyendo la morbimortalidad de los pacientes con infarto. Hasta entonces, tal y como muestra la Tabla 15 (página siguiente), esta modalidad terapéutica no parece asociarse a un incremento de sucesos cardiovasculares adversos.

Tabla 15. Acontecimientos adversos cardíacos o cerebrovasculares graves* en los ensayos clínicos que evaluaron la inyección intracoronaria de células madre en pacientes con IAMSTE reperfundido. En la primera fila (TECAM) se exponen nuestros datos.

Autor	Pacientes grupo tratado/control †	F-U	Muerte	Reinfarto	TVR	Ictus	Hospitalización por IC
TECAM	Fase I CMNMOA ic. (72)	40	3 (4%)	3 (4%)	5 (7%) ‡	1 (1%)	1 (1%)
Strauer ^{187,188}	Fase I CMNMOA ic. (10) Control NA (10)	3	0 (0%) -	- -	- -	- -	- -
Leistner ²³⁶	Fase I CMNMOA ic. (26) CPC ic. (29) Control NA (11)	12	1 (3%) 0 (0%) -	1 (3%) 1 (3%) -	6 (23%) 10 (34%) -	0 (0%) 0 (0%) -	0 (0%) 0 (0%) -
Chen ¹⁹¹	Fase II MSC ic. (34) Control A (35)	6	0 (0%) 0 (0%)	- -	- -	- -	- -
Kueth ¹⁹²	Fase I CMNMOA ic. (5)	12	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-	-
Meyer ²⁷⁷	Fase II CNMOA ic. (30) Control A (30)	61	2 (7%) 2 (7%)	1 (3%) 1 (3%)	6 (20%) 4 (13%)	- -	2 (7%) 3 (10%)
Bartunek ¹⁹⁹	Fase I CD133+ ic. (19) Control NA (16)	4	0 (0%) -	11 (57%) ¶	9 (47%) -	0 (0%) -	0 (0%) -
Katritsis ²⁰⁰	Fase I MSC +EPC ic. (6) Control NA (11)	4	1 (17%) -	- -	- -	- -	- -
Ge ²⁰¹	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (10) Control A (10)	6	0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%)
Janssens ¹⁸⁴	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (33) Control A (34)	4	1 (3%) 0 (0%)	0 (0%) 1 (3%)	2 (6%) 2 (6%)	0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%)
Beitnes ²⁰⁵	Fase II CMNMOA ic. (50) Control A (50)	36	1 (2%) 1 (2%)	1 (2%) 2 (4%)	12 (24%) 9 (18%)	1 (2%) 1 (2%)	2 (4%) 1 (2%)
Assmus ²⁰⁸	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (101) Control A (103)	24	3 (3%) 8 (8%)	0 (0%) 7 (7%)	19 (19%) 28 (27%)	1 (1%) 2 (2%)	1 (1%) 5 (5%)
Yousef ²¹⁸	Fase II CMNMOA ic. (62) Control NA (62)	55	1 (2%) 7 (11%)	- -	- -	- -	- -
Tendera ²¹⁷	Fase II CD34+CXCR4+ (80) CMNMOA ic. (80) Control A (40 p.)	6	1 (1%) 1 (1%) 1 (2%)	2 (2%) 1 (1%) 2 (5%)	12 (15%) 13 (16%) 7 (17%)	0 (0%) 0 (0%) 0 (0%)	- - -
Meluzin ^{212,213}	Fase II CMNMOA dosis alta (22) CMNMOA dosis baja (22) Control A (22)	3	0 (0%) 0 (0%) 0 (0%)	0 (0%) 0 (0%) 2 (9%)	2 (9%) 5 (22%) 1 (4%)	- - -	0 (0%) 0 (0%) 0 (0%)
Penicka ²¹⁵	Fase II CMNMOA ic. (17) Control A (10)	12	3 (18%) 0 (0%)	2 (12%) 0 (0%)	4 (23%) 4 (40%)	- -	1 (6%) 1 (10%)

Autor	Pacientes grupo tratado/control †	F-U	Muerte	Reinfarto	TVR	Ictus	Hospitalización por IC
Huikuri ²¹⁶	Fase II, doble ciego CMNMOA ic. (40) Control A (40)	6	o (0%) 1 (2%)	o (0%) 2 (5%)	3 (7%) 3 (7%)	o (0%) o (0%)	o (0%) 1 (2%)
Cao ²¹⁹	Fase II CMNMOA ic. (41) Control A (45)	48	o (0%) 1 (2%)	o (0%) o (0%)	o (0%) 1 (2%)	o (0%) o (0%)	o (0%) 1 (2%)
Choi ²¹⁴	Fase I G-CSF sc. + CPC ic. (10) NR control (63)	26	o (0%) 3 (5%)	o (0%) o (0%)	o (0%) 4 (6%)	o (0%) o (0%)	o (0%) 5 (8%)
Suárez de Lezo ²¹⁰	Fase II CMNMOA ic. (10) G-CSF sc. (10) Control A (10)	6	o (0%) o (0%) o (0%)	o (0%) o (0%) o (0%)	o (0%) o (0%) o (0%)	- - -	- - -
Kang ^{195,196}	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (7) G-CSF sc. (3) Control A (2)	3	o (0%) o (0%) o (0%)	o (0%) o (0%) o (0%)	5 (71%) 2 (67%) o (0%)	o (0%) o (0%) o (0%)	o (0%) o (0%) o (0%)
Kang ²⁰²	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (25) R control (25)	12	o (0%) o (0%)	o (0%) 1 (4%)	o (0%) 2 (8%)	- -	o (0%) o (0%)
Steinwender ²⁰⁹	Fase I G-CSF sc. + ic. CPC (20)	6	o (0%)	2 (10%)	2 (10%)	o (0%)	1 (5%)
Li ²¹¹	Fase II G-CSF sc. + CPC ic. (35) Control A (35)	6	o (0%)	o (0%)	o (0%)	o (0%)	o (0%)

Valores expresados como frecuencia absoluta y relativa (%) en relación al tiempo de seguimiento especificado en la 3ª columna de la tabla (F-U); la amplia variabilidad en porcentajes se justifica en la mayoría de los casos por el escaso tamaño muestral. CMNMOA indica células mononucleadas de médula ósea autóloga; CNMOA, células nucleadas de médula ósea autóloga; G-CSF, factor estimulador de colonias granulocíticas; Control A y NA, control aleatorizado y no aleatorizado respectivamente; CPC, células progenitoras circulantes; MSC, células mesenquimales de médula ósea autóloga (*mesenchymal stem cells*); IAM, infarto agudo de miocardio; F-U, meses de seguimiento clínico comunicado (*follow-up*). TVR, nueva revascularización de vaso culpable (*target vessel revascularization*). *Incluye sólo la información disponible a través de la publicación del estudio. †Todos los estudios son abiertos excepto aquellos en los que se indique otro diseño (p.ej. doble ciego). ‡Incluye 4 nuevas revascularizaciones de lesión culpable (*target lesion revascularization*) y 1 revascularización de lesión de novo en vaso culpable. ¶Número de eventos coronarios agudos (reinfarto o angina).

A continuación, y en detalle, se discutirá sobre varios aspectos esenciales relacionados con la seguridad del implante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga en el contexto postinfarto agudo de miocardio, y que se derivan del seguimiento de nuestros pacientes:

- Arritmogenicidad.
- Progresión de la aterosclerosis coronaria: reestenosis y pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent.
- Progresión de la aterosclerosis coronaria: vaso distal y arteria contralateral.

- Evolución de los parámetros de función microvascular.
- Evolución del remodelado ventricular.
- Impacto de la presencia de obstrucción microvascular persistente (OMP) en el remodelado ventricular izquierdo.

6.2.1. Arritmogenicidad²⁵⁷

En nuestro estudio, cinco pacientes presentaron arritmias ventriculares, cuatro de los cuales lo hicieron en las primeras semanas tras el implante celular, siendo especialmente preocupantes las sufridas por dos pacientes en las primeras 72 horas tras la inyección celular, por su gravedad y potencial relación con el procedimiento. Esta inesperada tasa de arritmias ventriculares sintomáticas, contrasta con los resultados de los primeros ensayos clínicos aleatorizados con esta modalidad de terapia celular (ver Tabla 15), así como con la documentada por otros ensayos clínicos de reperfusión (Figura 19).³⁰⁴

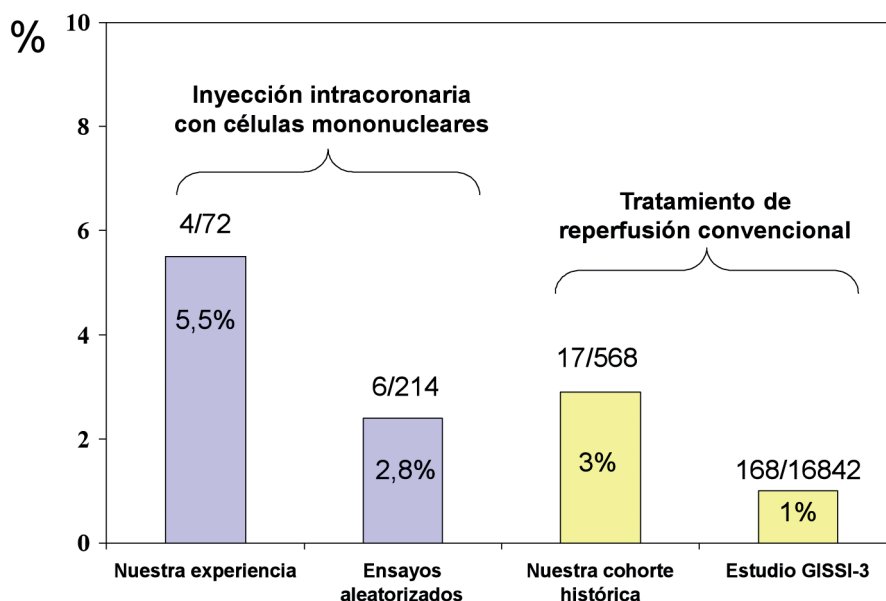


Figura 19. Incidencia de arritmias ventriculares. Las barras representadas representan los pacientes con infarto tratados con terapia celular: nuestra experiencia (incluye sólo arritmias en primer mes postinfarto) y la procedente de los 4 ensayos clínicos aleatorizados publicados hasta el momento de la comunicación de estos eventos;^{184,197,203,206} y los pacientes con infarto reperfundidos y tratados de forma convencional sin inyección celular: nuestra experiencia representada en una cohorte histórica (pacientes con IAMSTE revascularizados de forma similar) y el estudio *GISSI-3* (muerte súbita y taquicardia ventricular sostenida incluidos). Adaptado de *Villa et al.*²⁵⁷

Las aparición de arritmias ventriculares en pacientes sometidos a terapia celular había sido descrita principalmente en estudios que han utilizado mioblastos para la reparación del miocardio,^{265,305-307} todos ellos fuera del escenario del infarto agudo de miocardio, es decir en pacientes con cardiopatía isquémica crónica. Los mioblastos esqueléticos implantados poseen la capacidad de diferenciarse en miotubos multinucleados pero carecen de expresión de conexina 43 por lo que no se unen con los miocitos circundantes a través de uniones intercelulares y por tanto no se integran electro-mecánicamente, originando un substrato potencialmente arritmogénico. De acuerdo con esto las células implantadas están aisladas funcionalmente y laten en asincronía con los miocitos residentes. Tanto la heterogeneidad electrofisiológica como otros fenómenos pueden contribuir con los mioblastos y otros tipos de células madres a sus efectos proarrítmicos, incluyendo la arritmogenicidad intrínseca de las células, la reinervación y las lesiones locales o el edema inducidos por la liberación local. Otro posible mecanismo es el uso de proteínas heterólogas en los cultivos de mioblastos, ya que no se han descrito arritmias cuando estos son cultivados sin suero bovino.³⁰⁸

En contraste con las experiencias en cardiopatía isquémica crónica, la mayoría de ensayos clínicos con células mononucleadas de médula ósea no han evidenciado arritmias ventriculares o estas no se han producido en una proporción mayor de pacientes que en el grupo control, incluso contemplando en alguna ocasión la realización de estudios electrofisiológicos sistematizados,^{184,197} Sin embargo, este efecto adverso podría no ser exclusivo de los mioblastos, ya que Bartunek et al,¹⁹⁹ liberando células CD133+ por vía intracoronaria en pacientes con infarto agudo de miocardio, observaron rachas de taquicardia ventricular sostenida en un paciente en las primeras 48 horas postimplante celular. De la misma forma, en el ensayo clínico aleatorizado *ASTAMI* un paciente presentó un episodio de fibrilación ventricular resucitada en las primeras 24 horas postimplante de células mononucleadas autólogas.²⁰³ Las arritmias ventriculares muy precoces tras la inyección celular, nos obligan a ser extremadamente cautos, más aún teniendo en cuenta que la FEVI media postinfarto inmediato supera en la gran mayoría de estudios con ausencia de eventos arrítmicos el 45%, indicando una afectación inicial ligera-moderada secundaria al suceso isquémico.

En cualquier caso, aunque algunos detalles podrían hacernos argumentar a favor de un potencial efecto inductor de arritmias debido a la terapia celular (tiempo corto implante-arritmia, ausencia de desencadenantes identificados como isquemia o trastornos electrolíticos, ausencia de recurrencia de eventos arrítmicos en seguimiento prolongado posterior), señalar cualquier mecanismo como el causante de dichas arritmias sería absolutamente especulativo con los datos disponibles. Por ello, como me-

dida de prudencia parece lógico recomendar una vigilancia estrecha (monitorización ECG) en los 2-3 primeros días postinyección celular en aquellos pacientes con mayor sustrato arritmogénico, como aquellos con deterioro grave de la función ventricular. Hasta que ensayos clínicos de gran tamaño muestral incluyan a pacientes de éstas características (infartos de gran tamaño y con gran repercusión funcional basal), un potencial riesgo inherente a la terapia celular no podrá ser completamente descartado.

6.2.2. Progresión de la aterosclerosis coronaria: reestenosis y pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent²⁹⁷

De los efectos adversos a descartar tras la administración de terapia celular intracoronaria, la aterogénesis constituye un hecho controvertido. Es bien conocido que cualquier intervención dirigida a incrementar la neovascularización de un tejido (angiogénesis o colaterogénesis) puede favorecer el desarrollo de aterosclerosis (aterogénesis) y viceversa, lo que se ha venido a denominar el efecto *Janus*.²⁵⁶ Es por ello que tanto en el campo preclínico como en la investigación clínico se han detectado efectos contrapuestos en cuanto a la progresión de la enfermedad aterosclerótica postratamiento.

En nuestro estudio, la infusión intracoronaria de células mononucleadas no provocó mayor reestenosis intrastent que la esperada. Incluso si el trasplante celular hubiera sido el responsable del desarrollo de la reestenosis en la lesión culpable tratada con stent, el porcentaje de reestenosis binaria observado en nuestro estudio (5.5%) esta muy por debajo del esperado según la literatura.^{309,310} De un modo cuantitativo, la pérdida luminal tardía angiográfica presentada (0.57 ± 0.52 mm) se sitúa en unos valores razonables. El estudio con ecografía intracoronaria (IVUS) confirma que el implante celular no tuvo un impacto negativo en la evolución de la hiperplasia neointimal. Asimismo, al comparar la incidencia de reestenosis y progresión de volumen de placa entre ambos bordes del stent, no se hallaron diferencias, indicando que la exposición directa a la terapia celular (borde distal) no se vió acompañada de una aterogénesis acelerada.

Quisimos igualmente con el análisis angiográfico y ecográfico intracoronario, realizar una comparación evolutiva en función del tipo de stent implantado. La justificación de este subanálisis radica en varios hechos:

a) Por una parte, los progenitores celulares derivados de médula ósea juegan un papel decisivo en la reparación vascular y, en particular, en la reendotelización de los

stents, puesto que tanto los progenitores endoteliales como las células musculares lisas se derivan de células madre circulantes que son reclutadas mediante una reacción inflamatoria en el vaso dañado o el stent recién implantado. De hecho, dos ensayos clínicos en pacientes con IAMSTE, que evaluaron respectivamente el efecto de la movilización de progenitores de médula ósea con G-CSF y de la inyección intracoronaria de células CD133+, mostraron una tasa inesperadamente elevada de reestenosis intrastent y de eventos coronarios.^{195,199}

b) Por otro lado, la liberación local de rapamicina reduce dramáticamente la hiperplasia neointimal reactiva al daño vascular, fundamentalmente reduciendo el número de células musculares lisas derivadas de progenitores de médula ósea y de células hematopoyéticas en la lesión. Entre los mecanismos involucrados, una regulación a la baja selectiva y tiempo-dependiente de la expresión de genes en las células de la pared del vaso dañado es fundamental.³¹¹ Asimismo, en estudios *in vitro* la rapamicina disminuye el número y las capacidades funcionales de las células progenitoras endoteliales circulantes así como inhibe la diferenciación de células mononucleadas de médula ósea en progenitores endoteliales y acelera su senectud.^{312,313} Con mecanismos distintos, el paclitaxel también presenta un intenso potencial antiangiogénico,³¹⁴ a través de su influencia sobre el músculo liso y las células endoteliales adultas.^{315,316}

Nuestros hallazgos muestran que los stent farmacoactivos presentan un excelente perfil de seguridad en estos pacientes a largo plazo. A su vez, su uso se asoció de manera independiente con una menor pérdida luminal tardía y una menor hiperplasia neointimal, lo que en la práctica podría derivarse en una reducción de eventos clínicos tardíos (necesidad de nuevos procedimientos de revascularización). Es de especial relevancia el impacto sobre la hiperplasia neointimal, y aunque algunos autores han comunicado recientemente la ausencia de inducción de ésta por la terapia celular,²⁷⁶ no existía información proveniente de estudios con IVUS previa a nuestro estudio con este tipo de tratamiento, con sólo dos estudios publicados en los que pacientes sometidos a movilización medular con o sin posterior infusión celular intracoronaria no desarrollaron mayor tasa de reestenosis intrastent.^{226,317}

Así pues, el impacto de los stent recubiertos de drogas antiproliferativas en cuanto a la prevención de reestenosis e hiperplasia neointimal, parece estar preservado en los pacientes sometidos a esta modalidad de terapia celular. Como hipótesis muy atractiva para un futuro, como algunos autores han sugerido, la terapia celular podría favorecer el proceso de reendotelización de los stent farmacoactivos mientras éstos reducen la hiperplasia neointimal.³¹⁸

6.2.3. Progresión de la aterosclerosis coronaria: vaso distal y arteria contralateral²⁹⁸

Los resultados angiográficos obtenidos en segmento distal de arteria culpable tratada con stent y en arteria contralateral, en comparación con un grupo control contemporáneo emparejado de pacientes con IAMSTE sometido a similar estrategia de reperfusión, indican que la infusión intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga no induce progresión de la enfermedad aterosclerótica. Además, el subanálisis con ecografía intracoronaria descarta progresión del volumen de la placa en el segmento inmediatamente distal al stent en vaso culpable, aunque los efectos en los segmentos más distales de dichas arterias no pueden ser analizados adecuadamente mediante angiografía o IVUS por motivos obvios.

Los resultados mencionados previamente de ensayos clínicos realizados por *Kang et al.* y *Bartunek et al.*,^{195,199} iniciaron un intenso debate sobre un potencial efecto *Janus*, con inducción de aterogénesis acelerada en pacientes coronarios sometidos tras un IAMSTE a movilización de progenitores de médula ósea con G-CSF o a inyección intracoronaria de células CD133+. En el caso de la movilización con G-CSF del ensayo *MAGIC*, la protocolización del estudio con administración del factor estimulante antes de la reparación con stent del vaso culpable parece el punto clave en la progresión de aterosclerosis, y ha quedado de manifiesto tras la realización de nuevos ensayos clínicos y metanálisis.^{226,246} En el caso de las CD133+, un posible factor patogénico sería la asociación del uso de poblaciones enriquecidas en dichos progenitores hematopoyéticos a un desequilibrio entre citokinas implicadas con propiedades antiaterogénicas (disminución de interleukina-10) y proaterogénicas (incremento del factor de crecimiento del endotelio vascular, *VEGF-A*).²⁷⁵ Este grupo de autores observó un desequilibrio en dichos factores en pacientes con reestenosis intrastent o lesión de novo distal en arteria culpable. De un modo clarificador, los pacientes con mayor número de células implantadas mostraron mayor pérdida luminal tardía en segmentos distales, y 5 casos estudiados con IVUS mostraron en dicho segmento distal un incremento significativo de la carga de placa aterosclerótica tras la infusión de células CD133+ en comparación con la arteria contralateral no tratada.²⁷⁵

Sin embargo, estudios recientes como el publicado por *Assmus et al.*,²⁷⁶ descartan no sólo un aumento de la tasa de reestenosis o mayor pérdida luminal tardía en la lesión tratada con stent desnudo, sino también una mayor necesidad de revascularización del vaso culpable a los 3 años de seguimiento. Aunque los hallazgos de este último estudio son consistentes, e incluyen diferentes tipos celulares (células

mononucleares y progenitores circulantes obtenidos por aféresis), nuestros resultados completan lagunas previas, dado que el grupo control del análisis retrospectivo de *Assmuss et al.* no fue contemporáneo, el seguimiento angiográfico se realizó a los 4 meses, un tiempo muy corto para valorar efectos sobre la progresión de la enfermedad aterosclerótica, y además no aportan información sobre el vaso distal al stent.²⁷⁶ Con respecto a la aterogénesis postmovilización celular con G-CSF, los mismos autores del estudio *MAGIC* (*Kang et al.*) no observaron mayor pérdida luminal tardía en el segmento distal de vaso culpable tras infusión intracoronaria de progenitores movilizados de médula ósea con G-CSF tras un IAMSTE tratado con stent farmacoactivo en el ensayo clínico *MAGIC Cell-3-DES*.²⁰² Un subestudio con IVUS intracoronario del mismo ensayo clínico no mostró tampoco progresión de la aterosclerosis en los bordes del stent.³¹⁷

El efecto *Janus*,²⁵⁶ observado claramente en el ámbito de los ensayos clínicos de terapia celular, y su dirección predominante hacia neoangiogénesis o hacia aterogénesis, parecen por tanto determinados por múltiples factores y no solamente por el tipo de célula implantado. Esto se pone de manifiesto en estudios experimentales que han demostrado una reendotelización más precoz de vasos con daño endotelial tras la administración de G-CSF,³¹⁹ o tras la administración directa de células progenitoras.³²⁰ De un modo sorprendente, la administración intravenosa de células progenitoras endoteliales redujo el crecimiento neointimal tras daño vascular en otro estudio.³²¹ *Schmidt-Lucke et al.* demostraron que los pacientes coronarios con una cifra elevada de progenitores endoteliales circulantes presentaban una mejor evolución clínica, sugiriendo un efecto reparador vascular endógeno por esas células.³²² Por último, otro estudio experimental ya comentado pone de manifiesto un efecto favorecedor del proceso de reendotelización de stent farmacoactivos con el G-CSF.³¹⁸

6.2.4. Evolución de los parámetros de función microvascular

Previamente habíamos comentado que las células mononucleadas de médula ósea no producían un deterioro de la perfusión microvascular inmediatamente tras su infusión intracoronaria. Dicho análisis se repitió a los 6-9 meses, y los parámetros angiográficos indicadores del flujo coronario microvascular (TMPG) mostraron sorprendentemente una evolución favorable. En el seguimiento angiográfico el porcentaje de pacientes con patrón de lavado miocárdico óptimo (TMPG grado 3) se incrementó aunque sin alcanzar significación estadística (76% vs 54%; $p=0.06$). Igualmente, el estudio de reserva del flujo coronario (CFR) con sonda de doppler intracoronario mostró una tendencia positiva (1.91 ± 0.99 vs 2.34 ± 1.12 ; $p=0.06$). Esta evolución no

se vió afectada por el tipo de stent utilizado para la revascularización del infarto.²⁹⁷ Este hallazgo va en consonancia con los del grupo del *Dr. Schächinger* (Frankfurt) en el subanálisis del *TOPCARE-AMI*, quien no sólo no percibió deterioro de función microvascular postimplante celular sino que constató una mejoría substancial del flujo coronario según mediciones consecutivas de la reserva de flujo coronario (CFR), probablemente debido a una mejoría en la capacidad de vasodilatación máxima en la arteria coronaria que había recibido la inyección celular.¹⁹⁰ En cualquier caso, en ausencia de terapia celular ya ha sido descrita la evolución favorable de la función microvascular en pacientes con IAMSTE sometidos a idéntica estrategia de reperfusión a nuestro estudio, como es el caso del ensayo clínico *GRACIA-2*,⁶⁴ lo que sugiere que la terapia celular al menos no produce deterioro. (Figura 20).

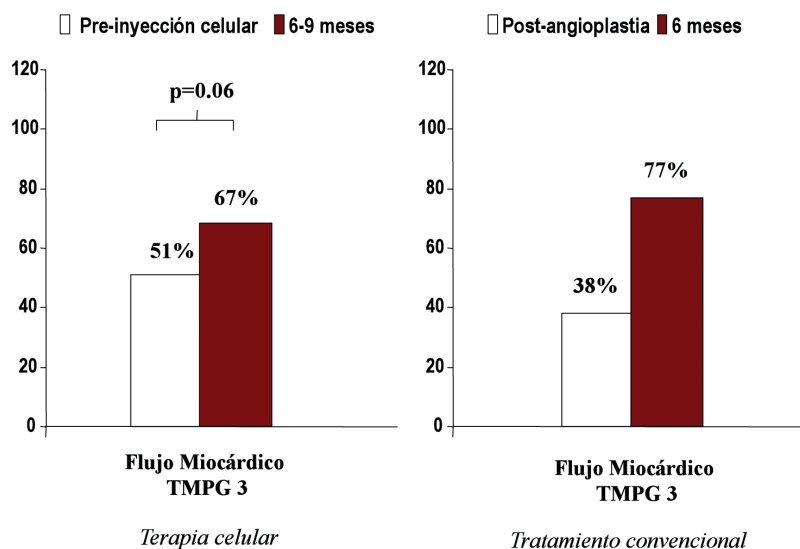


Figura 20. Evolución en la perfusión microvascular de los pacientes tratados con terapia celular y de pacientes revascularizados de forma similar (estudio *GRACIA-2*)⁶⁴ a los que no se le administró tratamiento celular.

6.2.5. Evolución del remodelado ventricular

Como objetivo secundario preespecificado, se ha valorado la evolución del remodelado ventricular a los 6-9 meses del infarto mediante técnicas de imagen cardiaca. Es destacable que en las dos modalidades de imagen cardiaca utilizadas, la resonancia magnética (patrón de referencia actual para el estudio de la FEVI) y la ventriculografía con contraste, los hallazgos son positivos y equivalentes, con un incremento en la FEVI en torno al 4%, similar a la de los principales estudios de terapia celular postinfarto y los metanálisis,²³⁷⁻²⁴⁴ sin cambios significativos en los volúmenes ventri-

culares telesistólico y telediastólico. Dado que el estudio es de fase I (de seguridad y factibilidad), y que por tanto no cuenta con un grupo control aleatorizado, no es posible afirmar que la terapia celular mejore la función ventricular de nuestros pacientes. No obstante, existen datos muy positivos en nuestros resultados, como la mejoría de la contractilidad regional (evaluado mediante el índice de motilidad regional con cardiorresonancia y el método de la línea central con ventriculografía con contraste). De hecho, la valoración de la contractilidad segmentaria, pese a su uso menos extendido que la FEVI por su mayor complejidad y subjetividad, ha demostrado en algunos estudios ser un predictor pronóstico superior en pacientes con infarto agudo de miocardio.³²³ Es conocido que el remodelado ventricular adverso postinfarto se inicia con el adelgazamiento y expansión de la pared infartada,⁹ lo que hace más significativo nuestro hallazgo de un incremento del grosor parietal en el área de la escara en el seguimiento, fundamentalmente a expensas del grosor sistólico, lo que indica recuperación de función contráctil.

Así pues, los resultados del seguimiento por imagen de la función y tamaño ventricular izquierdo nos hacen albergar esperanzas de la utilidad de esta terapia en la prevención del remodelado ventricular tras un infarto agudo de miocardio a corto plazo. Asimismo, el seguimiento de la función ventricular a largo plazo sugiere que dicha prevención se mantiene en el tiempo,²⁹⁹ aunque este aspecto es aún controvertido con hallazgos contradictorios entre grupos.^{218,219,236,277}

6.2.6. Impacto de la presencia de obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular izquierdo²⁶¹

Como se comentó previamente, el perfil de riesgo de los pacientes incluidos en ensayos clínicos de terapia celular postinfarto ha sido llamativamente bajo en la mayoría de los casos, con una función sistólica global basal en un rango que circunda en el límite inferior de la normalidad (ver Tabla 1)^{184,186,188,191,194,195,197,201-203,206,209,211,216,218,222,227,228,231,233} En nuestro estudio, decidimos analizar el remodelado ventricular en un subgrupo de pacientes en función de la presencia/ausencia de OMP en el área infartada, con el fin de objetivar la evolución en los pacientes con mayor riesgo de insuficiencia cardiaca futura. Evaluada por cardiorresonancia con realce tardío, la obstrucción microvascular persistente ha demostrado ser un parámetro de gran valor pronóstico tras el infarto.^{324,325}

Nuestras observaciones indican que la OMP se relaciona, también en pacientes sometidos a implante intracoronario de células mononucleadas postinfarto, con un

remodelado ventricular adverso a corto plazo, constituyendo por tanto un obstáculo no resuelto actualmente. Asimismo, nuestros hallazgos ponen de relieve la extraordinaria capacidad de la cardiioresonancia para evaluar el riesgo individual de sufrir dilatación ventricular, y en consecuencia insuficiencia cardíaca, tras un infarto agudo de miocardio.

Curiosamente, entre los resultados comunicados por otros grupos, encontramos que quienes más se beneficiaron de esta modalidad de terapia celular fueron pacientes de mayor riesgo. Es el caso del ensayo *REPAIR-AMI*,²⁰⁶ en el que se objetivó un beneficio considerablemente superior con inyección celular en el subgrupo de pacientes con fracción de eyección basal más deteriorada. De un modo similar, en el estudio realizado por *Janssens et al.* se detectó un incremento de la actividad metabólica del área infartada únicamente en infartos de gran tamaño, así como una mejoría en la contractilidad regional en pacientes con escara transmural que recibieron infusión celular, pese a no hallarse beneficio en la función ventricular global.¹⁸⁴

Sin embargo, pese a que la obstrucción microvascular ha demostrado ser un predictor pronóstico independiente de morbilidad postinfarto y por tanto, un marcador de riesgo para estos pacientes,^{324,325} sólo dos ensayos clínicos aleatorizados hasta el momento han evaluado su impacto sobre el efecto del implante intracoronario de células madre de médula ósea, con resultados negativos. En el caso del estudio *BOOST*, aunque la presencia de obstrucción microvascular parecía predecir en análisis *posthoc* la recuperación de la función sistólica global a los 6 meses,¹⁹⁷ dicha observación no se mantuvo en el seguimiento a 18 meses.²³⁴ A esto se añaden los hallazgos de *Janssens et al.*, quienes objetivaron que la OMP se asociaba a una falta de recuperación funcional, prediciendo dilatación ventricular, independientemente del tratamiento asignado (terapia celular o tratamiento convencional aislado).¹⁸⁴

Nuestro análisis apoya los hallazgos de estos últimos, y apunta a la necesidad de optimizar la metodología actual de la terapia celular postinfarto agudo para lograr resultados positivos en pacientes con OMP. Dado que el anidamiento miocárdico de las células madre es en general muy pobre,²⁵³ y que en la OMP el lecho capilar ocluido o destruido no permitiría a priori que las células madre implantadas por vía intravascular alcanzaran su objetivo, nuevas combinaciones terapéuticas (fenotipos celulares concretos, vías de administración alternativas, potenciación del efecto paracrino mediante citocinas) deberían ser objeto de futuras investigaciones en el contexto del IAMSTE.²⁵⁴

6.2.7. Limitaciones del estudio

El presente estudio presenta limitaciones obvias, derivadas fundamentalmente del hecho de ser un ensayo clínico en fase I. En los ensayos clínicos en fase I, los investigadores tratan de establecer, entre otros aspectos, la seguridad de un nuevo tratamiento o droga, así como identificar efectos secundarios adversos. En esta fase inicial, el nuevo fármaco o tratamiento, que ya ha mostrado en estudios preclínicos indicios de su utilidad o beneficio potencial para el tratamiento de una dolencia, es administrado o aplicado por vez primera a humanos, con el objetivo de evaluar su factibilidad y riesgos potenciales.

En consecuencia, la *primera limitación* evidente de nuestro estudio es la ausencia de grupo control aleatorizado, requisito indispensable para ensayos en fase II y III. Esto impide comparar tanto incidencia de sucesos adversos, como la evolución del remodelado ventricular con pacientes de similares características sometidos a tratamiento estándar tras un IAMSTE reperfundido. Sin embargo, en los objetivos de nuestro estudio se especifica el carácter exploratorio del ensayo clínico, que persigue el reconocimiento de las posibles complicaciones derivadas del tratamiento aplicado, permitiendo optimizar el diseño de nuevos ensayos clínicos con terapia celular postinfarto y generando hipótesis de trabajo, como es el caso de los estudios *TECAM- 2*¹ o el *TECAM-pacing*², ambos en fase II y coordinados por nuestro grupo de investigación (TECAM).

En *segundo lugar*, el tamaño muestral es limitado, lo cual reduce la potencia estadística en los análisis realizados. Sin embargo, el mayor ensayo clínico aleatorizado y en fase II publicado hasta el momento, con inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga tras un IAMSTE revascularizado, incluyó tan solo a 101 pacientes en la rama de tratamiento activo.²⁰⁶ Es por ello que la información procedente de nuestros 72 pacientes no es desdeñable.

En *tercer lugar*, el perfil de riesgo de nuestros pacientes es moderado-bajo, como lo indica por ejemplo la incidencia de muerte de origen cardiovascular (nula con un seguimiento medio de 39 meses), por lo que no podemos extrapolar conclusiones sobre riesgos potencialmente asociados a esta terapia a pacientes con mayor deterioro basal (cardiaco

¹ “Estudio aleatorizado del efecto de la terapia con células madre hematopoyéticas sobre la eoangiogénesis y neomiogénesis del infarto agudo de miocardio reperfundido y la re-endotelización del stent coronario recubierto de rapamicina” (Nº EudraCT: 2004-005149-36).

² “Estudio clínico de factibilidad, seguridad y eficacia del trasplante intracoronario de células madre mononucleares de médula ósea y de la terapia de estimulación cardíaca en pacientes con infarto agudo de miocardio”.

y general). La razón es común al resto de ensayos realizados, que presentan un sesgo de selección al reclutar enfermos supervivientes a la fase hiperaguda y con evolución clínica satisfactoria. No obstante, comparando nuestros pacientes con los de los dos únicos ensayos clínicos con terapia celular postinfarto agudo de miocardio con seguimiento clínico superior a 3 años, podemos concluir que nuestra población seleccionada es más representativa del paciente coronario agudo habitual que la de aquellos, que incluyeron a pacientes con edad media en torno a 51 años, casi 10 menos que en nuestro estudio.^{218,219}

En *cuarto lugar*, los seguimientos por imagen no son suficientemente largos como para descartar la aparición de aterogénesis acelerada en segmentos distales de arteria culpable por la infusión de células. Probablemente un seguimiento angiográfico a 24-48 meses, más común en estudios con este objetivo, hubiera ofrecido mayor información sobre la progresión de la enfermedad coronaria.²⁹⁸ A pesar de ello, los 6-9 meses de seguimiento superan el seguimiento ofrecido por otros grupos que analizan el segmento distal del vaso tratado, como el estudio de casos y controles de *Assmus et al.*²⁷⁶, o el ensayo aleatorizado *MAGIC Cell-3-DES*,²⁰² que descartan también la progresión de aterosclerosis. De la misma manera, el seguimiento clínico para descartar otras complicaciones como la tumorigénesis debería ser mucho más largo, teniendo en cuenta el periodo de latencia de algunos tumores. De cualquier modo, hasta el momento ningún estudio en humanos con células adultas e inyección intracoronaria de éstas ha detectado nuevos casos de tumores cardíacos en seguimientos de hasta 5 años,^{219,236} no guardando las dos neoplasias mortales sufridas por nuestros pacientes ninguna relación lógica o plausible con el tratamiento recibido.

Por último, nuestro estudio no ofrece información sobre el mecanismo de acción de la terapia celular en pacientes postinfarto. La publicación del resultado inicial observado en los primeros 20 pacientes de este ensayo piloto, incluyó un protocolo preclínico con un modelo murino de infarto experimental por criolesión.¹⁹⁴ El cultivo de células mononucleadas procedentes de los pacientes sobre el miocardio ventricular de ratón con necrosis permitió objetivar la integración de las células mononucleadas en el tejido, así como la adquisición de rasgos fenotípicos característicos de los miocitos. Pese a la tentación de atribuir a la regeneración miocárdica la recuperación funcional cardíaca hallada en la gran mayoría de estudios, la ínfima cantidad administrada a cada paciente en los ensayos clínicos, sumado al pobre anidamiento en el miocardio,²⁵³ hacen pensar que son otros los mecanismos fundamentalmente implicados (p.ej.: efecto paracrino reductor de apoptosis o inductor de angiogénesis, estimulación de la actividad de células madre cardíacas residentes, etc...). En cualquier caso, no es el objetivo del estudio presentado en este proyecto de tesis doctoral, centrado en la seguridad de la terapia.

7. Conclusiones

7. CONCLUSIONES

1. La inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con infarto agudo de miocardio extenso que han recibido terapia de reperfusión y revascularización adecuada del árbol coronario, es un tratamiento factible, y presenta un perfil de seguridad excelente tanto a corto como a largo plazo en pacientes de riesgo bajo-moderado.

2. La inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga en este contexto clínico, se asoció a una mejoría ligera en la perfusión microvascular a los 6-9 meses del evento agudo.

3. La inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga en este contexto clínico, no se asoció a mayores pérdida luminal tardía o incidencia de reestenosis intrastent, ni tampoco a una progresión de la enfermedad coronaria en el segmento distal sin stent del vaso culpable ni en la arteria contralateral a los 6-9 meses de la revascularización.

4. Con los datos actuales no es posible descartar un potencial efecto arritmogénico precoz tras la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga, en pacientes con disfunción ventricular severa postinfarto. Hasta que nuevos ensayos clínicos aleatorizados y con mayor tamaño muestral incluyan a pacientes de estas características, sería recomendable en sujetos con mayor substrato arritmogénico una monitorización electrocardiográfica en las primeras 48-72 horas postprocedimiento.

5. Los pacientes de nuestro estudio presentaron en términos generales una mejoría modesta en la función ventricular izquierda global y segmentaria a los 6-9 meses de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga.

6. Los pacientes de nuestro estudio que presentaban obstrucción microvascular persistente en el estudio basal de cardiiorresonancia con realce tardío, desarrollaron un remodelado ventricular adverso a los 6-9 meses de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga.

7. La seguridad de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga postinfarto debería reevaluarse en futuros ensayos clínicos con la inclusión de pacientes con mayor riesgo de desarrollar remodelado ventricular ad-

verso e insuficiencia cardiaca, como son aquellos con infarto de mayor tamaño, revascularización coronaria tardía, obstrucción microvascular persistente o deterioro severo basal de función ventricular izquierda.

8. La evaluación de la seguridad de la inyección intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga postinfarto no termina en los ensayos clínicos en fase I, y debe realizarse y prolongarse en el tiempo con un registro exhaustivo de eventos adversos en futuros estudios en fase II-III.

Bibliografia

BIBLIOGRAFÍA

1. Estadística INd. Defunciones según la Causa de Muerte. Año 2009. *Nota de prensa de 4 de julio de 2011. Disponible en URL: <http://www.ine.es/prensa/prensa.htm>.*
2. Sanchez PL, Fernandez-Aviles F. [Facilitated angioplasty: neither black nor white]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:111-8.
3. Weaver WD, Simes RJ, Betriu A, Grines CL, Zijlstra F, Garcia E, Grinfeld L, Gibbons RJ, Ribeiro EE, DeWood MA, Ribichini F. Comparison of primary coronary angioplasty and intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review. *Jama* 1997;278:2093-8.
4. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003;361:13-20.
5. Boersma E. Does time matter? A pooled analysis of randomized clinical trials comparing primary percutaneous coronary intervention and in-hospital fibrinolysis in acute myocardial infarction patients. *Eur Heart J* 2006;27:779-88.
6. Eagle KA, Goodman SG, Avezum A, Budaj A, Sullivan CM, Lopez-Sendon J. Practice variation and missed opportunities for reperfusion in ST-segment-elevation myocardial infarction: findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Lancet* 2002;359:373-7.
7. Hasdai D, Behar S, Wallentin L, Danchin N, Gitt AK, Boersma E, Fioretti PM, Simoons ML, Battler A. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J* 2002;23:1190-201.
8. Fox KA, Goodman SG, Anderson FA, Jr., Granger CB, Moscucci M, Flather MD, Spencer F, Budaj A, Dabbous OH, Gore JM. From guidelines to clinical practice: the impact of hospital and geographical characteristics on temporal trends in the management of acute coronary syndromes. The Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Eur Heart J* 2003;24:1414-24.
9. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161-72.
10. Weisman HF, Bush DE, Mannisi JA, Weisfeldt ML, Healy B. Cellular mechanisms of myocardial infarct expansion. *Circulation* 1988;78:186-201.

11. Erlebacher JA, Weiss JL, Eaton LW, Kallman C, Weisfeldt ML, Bulkley BH. Late effects of acute infarct dilation on heart size: a two dimensional echocardiographic study. *Am J Cardiol* 1982;49:1120-6.
12. Bowen FW, Jones SC, Narula N, St John Sutton MG, Plappert T, Edmunds LH, Jr., Dixon IM. Restraining acute infarct expansion decreases collagenase activity in borderzone myocardium. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1950-6.
13. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 1975;56:56-64.
14. Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G. Left ventricular failure induced by myocardial infarction. II. Tissue morphometry. *Am J Physiol* 1985;248:H883-9.
15. Sigurdsson A, Held P, Swedberg K, Wall B. Neurohormonal effects of early treatment with enalapril after acute myocardial infarction and the impact on left ventricular remodelling. *Eur Heart J* 1993;14:1110-7.
16. Gadsboll N, Hoilund-Carlsen PF, Badsberg JH, Stage P, Marving J, Lonborg-Jensen H. Late ventricular dilatation in survivors of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1989;64:961-6.
17. Jeremy RW, Allman KC, Bautovitch G, Harris PJ. Patterns of left ventricular dilation during the six months after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1989;13:304-10.
18. Pfeffer MA, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E. Effect of captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1988;319:80-6.
19. Warren SE, Royal HD, Markis JE, Grossman W, McKay RG. Time course of left ventricular dilation after myocardial infarction: influence of infarct-related artery and success of coronary thrombolysis. *J Am Coll Cardiol* 1988;11:12-9.
20. Pirolo JS, Hutchins GM, Moore GW. Infarct expansion: pathologic analysis of 204 patients with a single myocardial infarct. *J Am Coll Cardiol* 1986;7:349-54.
21. Pfeffer MA, Pfeffer JM. Ventricular enlargement and reduced survival after myocardial infarction. *Circulation* 1987;75:IV93-7.
22. Mitchell GF, Lamas GA, Vaughan DE, Pfeffer MA. Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of contractile segment lengths and ventricular shape. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:1136-44.

23. Mitchell GF, Lamas GA, Pfeffer MA. Ventricular remodeling after myocardial infarction. *Adv Exp Med Biol* 1993;346:265-76.
24. Aikawa Y, Rohde L, Plehn J, Greaves SC, Menapace F, Arnold MO, Rouleau JL, Pfeffer MA, Lee RT, Solomon SD. Regional wall stress predicts ventricular remodeling after antero-septal myocardial infarction in the Healing and Early Afterload Reducing Trial (HEART): an echocardiography-based structural analysis. *Am Heart J* 2001;141:234-42.
25. Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2009;81:457-64.
26. Lijnen P, Petrov V. Antagonism of the renin-angiotensin-aldosterone system and collagen metabolism in cardiac fibroblasts. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999;21:215-27.
27. Yamani M, Massie BM. Congestive heart failure: insights from epidemiology, implications for treatment. *Mayo Clin Proc* 1993;68:1214-8.
28. Adams KF, Jr., Fonarow GC, Emerman CL, LeJemtel TH, Costanzo MR, Abraham WT, Berkowitz RL, Galvao M, Horton DP. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for heart failure in the United States: rationale, design, and preliminary observations from the first 100,000 cases in the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE). *Am Heart J* 2005;149:209-16.
29. Haldeman GA, Croft JB, Giles WH, Rashidee A. Hospitalization of patients with heart failure: National Hospital Discharge Survey, 1985 to 1995. *Am Heart J* 1999;137:352-60.
30. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, Tavazzi L, Smiseth OA, Gavazzi A, Haverich A, Hoes A, Jaarsma T, Korewicki J, Levy S, Linde C, Lopez-Sendon JL, Nieminen MS, Pierard L, Remme WJ. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26:1115-40.
31. McMurray J, McDonagh T, Morrison CE, Dargie HJ. Trends in hospitalization for heart failure in Scotland 1980-1990. *Eur Heart J* 1993;14:1158-62.
32. Reitsma JB, Mosterd A, de Craen AJ, Koster RW, van Capelle FJ, Grobbee DE, Tijssen JG. Increase in hospital admission rates for heart failure in The Netherlands, 1980-1993. *Heart* 1996;76:388-92.
33. Ceia F, Fonseca C, Mota T, Morais H, Matias F, de Sousa A, Oliveira A. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study. *Eur J Heart Fail* 2002;4:531-9.

34. Cortina A, Reguero J, Segovia E, Rodriguez Lambert JL, Cortina R, Arias JC, Vara J, Torre F. Prevalence of heart failure in Asturias (a region in the north of Spain). *Am J Cardiol* 2001;87:1417-9.
35. Martinez-Selles M, Garcia Robles JA, Prieto L, Serrano JA, Munoz R, Frades E, Almendral J. Annual rates of admission and seasonal variations in hospitalizations for heart failure. *Eur J Heart Fail* 2002;4:779-86.
36. Grigorian Shamagian L, Roman AV, Ramos PM, Acuna JM, Veloso PR, Gonzalez-Juanatey JR. Acute pulmonary edema in patients with decompensated heart failure. Role of underlying cardiopathy on the prognosis. *Int J Cardiol* 2007;121:302-5.
37. Marrugat J, Medrano MJ, Tresserras Rc. La cardiopatía isquémica como causa principal de muerte en España: realidad epidemiológica, necesidades asistenciales y de investigación. *Clin Invest Arterioscl*. 2001;13:262-270.
38. Perez G, Pena A, Sala J, Roset P, Masia R, Marrugat J. Acute myocardial infarction case fatality, incidence and mortality rates in a population registry in Girona, Spain, 1990-1992. REGICOR Investigators. *Int J Epidemiol* 1998;27:599-604.
39. Marrugat J, Sala J, Manresa JM, Gil M, Elosua R, Perez G, Albert X, Pena A, Masia R. Acute myocardial infarction population incidence and in-hospital management factors associated to 28-day case-fatality in the 65 year and older. *Eur J Epidemiol* 2004;19:231-7.
40. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999;353:1547-57.
41. Garcia J, Elosua R, Tormo Diaz MJ, Audicana Uriarte C, Zurriaga O, Segura A, Fiol M, Moreno-Iribas C, Alonso E, Bosch S, Vega G, Sala J, Marrugat J. [Myocardial infarction. Population case-fatality in seven Spanish autonomous communities: the IBERICA Study]. *Med Clin (Barc)* 2003;121:606-12.
42. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Hand M, Hochman JS, Krumholz HM, Kushner FG, Lamas GA, Mullany CJ, Ornato JP, Pearle DL, Sloan MA, Smith SC, Jr., Alpert JS, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Gibbons RJ, Gregoratos G, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Jacobs AK. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction—executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 2004;110:588-636.
43. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, Maroko PR, DeBoer LW, Braunwald E. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circulation* 1980;62:945-52.

44. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977;56:786-94.
45. Mauri F, Gasparini M, Barbonaglia L, Santoro E, Grazia Franzosi M, Tognoni G, Rovelli F. Prognostic significance of the extent of myocardial injury in acute myocardial infarction treated by streptokinase (the GISSI trial). *Am J Cardiol* 1989;63:1291-5.
46. Steg PG, Bonnefoy E, Chabaud S, Lapostolle F, Dubien PY, Cristofini P, Leizorovicz A, Touboul P. Impact of time to treatment on mortality after prehospital fibrinolysis or primary angioplasty: data from the CAPTIM randomized clinical trial. *Circulation* 2003;108:2851-6.
47. Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomised trials of more than 1000 patients. Fibrinolytic Therapy Trialists' (FTT) Collaborative Group. *Lancet* 1994;343:311-22.
48. De Luca G, Suryapranata H, Ottervanger JP, Antman EM. Time delay to treatment and mortality in primary angioplasty for acute myocardial infarction: every minute of delay counts. *Circulation* 2004;109:1223-5.
49. Silber S, Albertsson P, Aviles FF, Camici PG, Colombo A, Hamm C, Jorgensen E, Marco J, Nordrehaug JE, Ruzyllo W, Urban P, Stone GW, Wijns W. Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26:804-47.
50. Carruthers KF, Dabbous OH, Flather MD, Starkey I, Jacob A, Macleod D, Fox KA. Contemporary management of acute coronary syndromes: does the practice match the evidence? The global registry of acute coronary events (GRACE). *Heart* 2005;91:290-8.
51. Gersh BJ, Stone GW, White HD, Holmes DR, Jr. Pharmacological facilitation of primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: is the slope of the curve the shape of the future? *Jama* 2005;293:979-86.
52. Nallamothu BK, Bates ER, Herrin J, Wang Y, Bradley EH, Krumholz HM. Times to treatment in transfer patients undergoing primary percutaneous coronary intervention in the United States: National Registry of Myocardial Infarction (NORMI)-3/4 analysis. *Circulation* 2005;111:761-7.
53. Nallamothu BK, Bates ER, Wang Y, Bradley EH, Krumholz HM. Driving times and distances to hospitals with percutaneous coronary intervention in the United States: implications for prehospital triage of patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circulation* 2006;113:1189-95.

54. Sanchez PL, Fernandez-Aviles F. Appropriate invasive and conservative treatment strategies for patients with ST elevation myocardial infarction. *Curr Opin Cardiol* 2005;20:530-5.
55. Ohman EM, Califf RM, Topol EJ, Candela R, Abbottsmith C, Ellis S, Sigmon KN, Kereiakes D, George B, Stack R. Consequences of reocclusion after successful reperfusion therapy in acute myocardial infarction. TAMI Study Group. *Circulation* 1990;82:781-91.
56. White HD, French JK, Hamer AW, Brown MA, Williams BF, Ormiston JA, Cross DB. Frequent reocclusion of patent infarct-related arteries between 4 weeks and 1 year: effects of antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:218-23.
57. Meijer A, Verheugt FW, van Eenige MJ, Werter CJ. Left ventricular function at 3 months after successful thrombolysis. Impact of reocclusion without reinfarction on ejection fraction, regional function, and remodeling. *Circulation* 1994;90:1706-14.
58. Nijland F, Kamp O, Verheugt FW, Veen G, Visser CA. Long-term implications of reocclusion on left ventricular size and function after successful thrombolysis for first anterior myocardial infarction. *Circulation* 1997;95:111-7.
59. Halkin A, Stone GW, Dixon SR, Grines CL, Tchong JE, Cox DA, Garcia E, Brodie B, Stuckey TD, Mehran R, Lansky AJ. Impact and determinants of left ventricular function in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005;96:325-31.
60. Gil M, Marrugat J, Sala J, Masia R, Elosua R, Albert X, Pena A, Vila J, Pavesi M, Perez G. Relationship of therapeutic improvements and 28-day case fatality in patients hospitalized with acute myocardial infarction between 1978 and 1993 in the REGICOR study, Gerona, Spain. The REGICOR Investigators. *Circulation* 1999;99:1767-73.
61. Topol EJ, Califf RM, Vandormael M, Grines CL, George BS, Sanz ML, Wall T, O'Brien M, Schwaiger M, Aguirre FV, et al. A randomized trial of late reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction-6 Study Group. *Circulation* 1992;85:2090-9.
62. Yousef ZR, Redwood SR, Bucknall CA, Sulke AN, Marber MS. Late intervention after anterior myocardial infarction: effects on left ventricular size, function, quality of life, and exercise tolerance: results of the Open Artery Trial (TOAT Study). *J Am Coll Cardiol* 2002;40:869-76.
63. Hochman JS, Lamas GA, Buller CE, Dzavik V, Reynolds HR, Abramsky SJ, Forman S, Ruzyllo W, Maggioni AP, White H, Sadowski Z, Carvalho AC, Rankin JM, Renkin JP, Steg PG, Mascette AM, Sopko G, Pfisterer ME, Leor J,

Fridrich V, Mark DB, Knatterud GL. Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:2395-407.

64. Fernandez-Aviles F, Alonso JJ, Pena G, Blanco J, Alonso-Briales J, Lopez-Mesa J, Fernandez-Vazquez F, Moreu J, Hernandez RA, Castro-Beiras A, Gabriel R, Gibson CM, Sanchez PL. Primary angioplasty vs. early routine post-fibrinolysis angioplasty for acute myocardial infarction with ST-segment elevation: the GRACIA-2 non-inferiority, randomized, controlled trial. *Eur Heart J* 2007;28:949-60.

65. Nicolau JC, Balestrini CS. [Cellular protection in acute myocardial infarction with ST-segment elevation]. *Rev Esp Cardiol* 2003;56 Suppl 1:13-20.

66. Becker RC, Gore JM. Adjunctive use of beta-adrenergic blockers, calcium antagonists and other therapies in coronary thrombolysis. *Am J Cardiol* 1991;67:25A-31A.

67. Reimer KA, Jennings RB. Effects of calcium-channel blockers on myocardial preservation during experimental acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1985;55:107B-115B.

68. Gheorghiade M, Goldstein S. Calcium-channel blockers in postmyocardial infarction patients with special notation to the Danish verapamil infarction trial II. *Prog Cardiovasc Dis* 1991;34:37-43.

69. Gonzalez-Juanatey JR, Garcia-Acuna JM, Calvo Gomez C, Amaro Cendon A, Fernandez-Lopez JA, Gil de la Pena M. [Effect of verapamil and nitrendipine on the left ventricular mass and function (systolic and diastolic) in arterial hypertension]. *Rev Esp Cardiol* 1994;47:375-83.

70. Rah BJ, Kim HO, Park YW. Effect of pretreatment with diltiazem on left ventricular function and intracellular calcium distribution in postischemic reperfused guinea-pig hearts. *Coron Artery Dis* 1994;5:415-23.

71. Knabb RM, Rosamond TL, Fox KA, Sobel BE, Bergmann SR. Enhancement of salvage of reperfused ischemic myocardium by diltiazem. *J Am Coll Cardiol* 1986;8:861-71.

72. Nicolau JC, Ramires JA, Maggioni AP, Garzon SA, Pinto MA, Silva DG, Nogueira PR, Maia LF, Vendramini P, Bassi I. Diltiazem improves left ventricular systolic function following acute myocardial infarction treated with streptokinase. The Calcium Antagonist in Reperfusion Study (CARES) Group. *Am J Cardiol* 1996;78:1049-52.

73. Theroux P, Gregoire J, Chin C, Pelletier G, de Guise P, Juneau M. Intravenous diltiazem in acute myocardial infarction. Diltiazem as adjunctive therapy to activase (DATA) trial. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:620-8.

74. Sodi-Pallares D, Testelli MR, Fishleder BL, Bisteni A, Medrano GA, Friedland C, De Micheli A. Effects of an intravenous infusion of a potassium-glucose-insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction. A preliminary clinical report. *Am J Cardiol* 1962;9:166-81.
75. Diaz R, Paolasso EA, Piegas LS, Tajer CD, Moreno MG, Corvalan R, Isea JE, Romero G. Metabolic modulation of acute myocardial infarction. The ECLA (Estudios Cardiológicos Latinoamerica) Collaborative Group. *Circulation* 1998;98:2227-34.
76. Ely SW, Berne RM. Protective effects of adenosine in myocardial ischemia. *Circulation* 1992;85:893-904.
77. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leeser MA, Browne KF, Eisenberg PR, Bolli R, Casas AC, Molina-Viamonte V, Orlandi C, Blevins R, Gibbons RJ, Califf RM, Granger CB. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction STudy of ADenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:1711-20.
78. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1775-80.
79. Schaper W, Binz K, Sass S, Winkler B. Influence of collateral blood flow and of variations in MVO₂ on tissue-ATP content in ischemic and infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19:19-37.
80. Rupprecht HJ, vom Dahl J, Terres W, Seyfarth KM, Richardt G, Schultheis HP, Buerke M, Sheehan FH, Drexler H. Cardioprotective effects of the Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchange inhibitor cariporide in patients with acute anterior myocardial infarction undergoing direct PTCA. *Circulation* 2000;101:2902-8.
81. Zeymer U, Suryapranata H, Monassier JP, Opolski G, Davies J, Rasmanis G, Linssen G, Tebbe U, Schroder R, Tiemann R, Machnig T, Neuhaus KL. The Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchange inhibitor eniporide as an adjunct to early reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Results of the evaluation of the safety and cardioprotective effects of eniporide in acute myocardial infarction (ESCAMI) trial. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1644-50.
82. Sanchez PL, Rodriguez MV, Villacorta E, Albarran C, Cruz I, Moreiras JM, Martin F, Pabon P, Fernandez-Aviles F, Martin-Luengo C. [Kinetics of C-reactive protein release in different forms of acute coronary syndrome]. *Rev Esp Cardiol* 2006;59:441-7.
83. Bulkley BH, Roberts WC. Steroid therapy during acute myocardial infarction. A cause of delayed healing and of ventricular aneurysm. *Am J Med* 1974;56:244-50.

84. Brown EJ, Jr., Kloner RA, Schoen FJ, Hammerman H, Hale S, Braunwald E. Scar thinning due to ibuprofen administration after experimental myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1983;51:877-83.
85. Hammerman H, Kloner RA, Hale S, Schoen FJ, Braunwald E. Dose-dependent effects of short-term methylprednisolone on myocardial infarct extent, scar formation, and ventricular function. *Circulation* 1983;68:446-52.
86. Hammerman H, Kloner RA, Schoen FJ, Brown EJ, Jr., Hale S, Braunwald E. Indomethacin-induced scar thinning after experimental myocardial infarction. *Circulation* 1983;67:1290-5.
87. Hammerman H, Schoen FJ, Braunwald E, Kloner RA. Drug-induced expansion of infarct: morphologic and functional correlations. *Circulation* 1984;69:611-7.
88. Jugdutt BI. Delayed effects of early infarct-limiting therapies on healing after myocardial infarction. *Circulation* 1985;72:907-14.
89. Jugdutt BI, Basualdo CA. Myocardial infarct expansion during indomethacin or ibuprofen therapy for symptomatic post infarction pericarditis. Influence of other pharmacologic agents during early remodelling. *Can J Cardiol* 1989;5:211-21.
90. Jolly SR, Kane WJ, Hook BG, Abrams GD, Kunkel SL, Lucchesi BR. Reduction of myocardial infarct size by neutrophil depletion: effect of duration of occlusion. *Am Heart J* 1986;112:682-90.
91. Tanaka M, Brooks SE, Richard VJ, FitzHarris GP, Stoler RC, Jennings RB, Arfors KE, Reimer KA. Effect of anti-CD18 antibody on myocardial neutrophil accumulation and infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 1993;87:526-35.
92. Aversano T, Zhou W, Nedelman M, Nakada M, Weisman H. A chimeric IgG4 monoclonal antibody directed against CD18 reduces infarct size in a primate model of myocardial ischemia and reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:781-8.
93. Arai M, Lefer DJ, So T, DiPaula A, Aversano T, Becker LC. An anti-CD18 antibody limits infarct size and preserves left ventricular function in dogs with ischemia and 48-hour reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1278-85.
94. Baran KW, Nguyen M, McKendall GR, Lambrew CT, Dykstra G, Palmeri ST, Gibbons RJ, Borzak S, Sobel BE, Gourlay SG, Rundle AC, Gibson CM, Barron HV. Double-blind, randomized trial of an anti-CD18 antibody in conjunction with recombinant tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction: limitation of myocardial infarction following thrombolysis in acute myocardial infarction (LIMIT AMI) study. *Circulation* 2001;104:2778-83.

95. Faxon DP, Gibbons RJ, Chronos NA, Gurbel PA, Sheehan F. The effect of blockade of the CD11/CD18 integrin receptor on infarct size in patients with acute myocardial infarction treated with direct angioplasty: the results of the HALT-MI study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1199-204.
96. Vakeva AP, Agah A, Rollins SA, Matis LA, Li L, Stahl GL. Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation* 1998;97:2259-67.
97. Mahaffey KW, Granger CB, Nicolau JC, Ruzyllo W, Weaver WD, Theroux P, Hochman JS, Filloon TG, Mojcik CF, Todaro TG, Armstrong PW. Effect of pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to fibrinolysis in acute myocardial infarction: the COMplement inhibition in myocardial infarction treated with thromboLYtics (COMPLY) trial. *Circulation* 2003;108:1176-83.
98. Granger CB, Mahaffey KW, Weaver WD, Theroux P, Hochman JS, Filloon TG, Rollins S, Todaro TG, Nicolau JC, Ruzyllo W, Armstrong PW. Pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: the COMplement inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty (COMMA) trial. *Circulation* 2003;108:1184-90.
99. Garcia-Dorado D, Vinten-Johansen J, Piper HM. Bringing preconditioning and postconditioning into focus. *Cardiovasc Res* 2006;70:167-9.
100. Wijns W, Heyndrickx GR. Cold cardioplegia for acute infarction a viable adjunct to reperfusion therapy? *J Am Coll Cardiol* 2007;49:261-2.
101. Yatani A, Kim SJ, Kudej RK, Wang Q, Depre C, Irie K, Kranias EG, Vatner SF, Vatner DE. Insights into cardioprotection obtained from study of cellular Ca²⁺ handling in myocardium of true hibernating mammals. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H2219-28.
102. Dixon SR, Whitbourn RJ, Dae MW, Grube E, Sherman W, Schaer GL, Jenkins JS, Baim DS, Gibbons RJ, Kuntz RE, Popma JJ, Nguyen TT, O'Neill WW. Induction of mild systemic hypothermia with endovascular cooling during primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1928-34.
103. Otake H, Shite J, Paredes OL, Shinke T, Yoshikawa R, Tanino Y, Watanabe S, Ozawa T, Matsumoto D, Ogasawara D, Yokoyama M. Catheter-based transcoronary myocardial hypothermia attenuates arrhythmia and myocardial necrosis in pigs with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:250-60.
104. Jugdutt BI. Nitrates for myocardial salvage in the 1990s. *Cardiology* 1991;79 Suppl 2:2-4.

- 105.** Jugdutt BI. Intravenous nitroglycerin unloading in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991;68:52D-63D.
- 106.** Jugdutt BI, Warnica JW. Intravenous nitroglycerin therapy to limit myocardial infarct size, expansion, and complications. Effect of timing, dosage, and infarct location. *Circulation* 1988;78:906-19.
- 107.** Pabon Osuna P, Garcia Moreno LM, Arribas Jimenez A, Sala Sanchez-Castillo A, Martin Luengo C, Sanchez Hernandez J, Castano Bazo L, Cascon Bueno M, Diego Dominguez M, Ledesma Garcia C. Isosorbide dinitrate sublingual therapy for inferior myocardial infarction: randomized trial to assess infarct size limitation. *Am J Cardiol* 1985;55:330-4.
- 108.** Ruiz-Stewart I, Tiyyagura SR, Lin JE, Kazerounian S, Pitari GM, Schulz S, Martin E, Murad F, Waldman SA. Guanylyl cyclase is an ATP sensor coupling nitric oxide signaling to cell metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:37-42.
- 109.** Tiyyagura SR, Kazerounian S, Schulz S, Waldman SA, Pitari GM. Reciprocal regulation and integration of signaling by intracellular calcium and cyclic GMP. *Vitam Horm* 2004;69:69-94.
- 110.** Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:739-49.
- 111.** Jugdutt BI. Myocardial salvage by intravenous nitroglycerin in conscious dogs: loss of beneficial effect with marked nitroglycerin-induced hypotension. *Circulation* 1983;68:673-84.
- 112.** Come PC, Flaherty JT, Baird MG, Rouleau JR, Weisfeldt ML, Greene HL, Becker L, Pitt B. Reversal by phenylephrine of the beneficial effects of intravenous nitroglycerin in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1975;293:1003-7.
- 113.** Six-month effects of early treatment with lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together withdrawn six weeks after acute myocardial infarction: the GISSI-3 trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:337-44.
- 114.** Yusuf S, Collins R, MacMahon S, Peto R. Effect of intravenous nitrates on mortality in acute myocardial infarction: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1988;1:1088-92.
- 115.** ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet* 1995;345:669-85.

116. Pinto YM, de Smet BG, van Gilst WH, Scholtens E, Monnick S, de Graeff PA, Wesseling H. Selective and time related activation of the cardiac renin-angiotensin system after experimental heart failure: relation to ventricular function and morphology. *Cardiovasc Res* 1993;27:1933-8.
117. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Mirsky I, Braunwald E. Regression of left ventricular hypertrophy and prevention of left ventricular dysfunction by captopril in the spontaneously hypertensive rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79:3310-4.
118. Brilla CG, Reams GP, Maisch B, Weber KT. Renin-angiotensin system and myocardial fibrosis in hypertension: regulation of the myocardial collagen matrix. *Eur Heart J* 1993;14 Suppl J:57-61.
119. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Mirsky I, Braunwald E. Prevention of the development of heart failure and the regression of cardiac hypertrophy by captopril in the spontaneously hypertensive rat. *Eur Heart J* 1983;4 Suppl A:143-8.
120. Gonzalez-Juanatey JR, Reino AP, Garcia-Acuna JM, Varela Roman A, Calvo Gomez C, Cabezas-Cerrato J. Effects on left ventricular mass and function of low doses of enalapril for systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1998;81:87-90.
121. Sharpe N, Murphy J, Smith H, Hannan S. Treatment of patients with symptomless left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Lancet* 1988;1:255-9.
122. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ, Jr., Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992;327:669-77.
123. Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliassen P, Lyngborg K, Videbaek J, Cole DS, Auclert L, Pauly NC. A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Engl J Med* 1995;333:1670-6.
124. Latini R, Tognoni G, Maggioni AP, Baigent C, Braunwald E, Chen ZM, Collins R, Flather M, Franzosi MG, Kjekshus J, Kober L, Liu LS, Peto R, Pfeffer M, Pizzetti F, Santoro E, Sleight P, Swedberg K, Tavazzi L, Wang W, Yusuf S. Clinical effects of early angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment for acute myocardial infarction are similar in the presence and absence of aspirin: systematic overview of individual data from 96,712 randomized patients. Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1801-7.
125. Flather MD, Yusuf S, Kober L, Pfeffer M, Hall A, Murray G, Torp-Pedersen C, Ball S, Pogue J, Moye L, Braunwald E. Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left-ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. ACE-Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. *Lancet* 2000;355:1575-81.

- 126.** Rodrigues EJ, Eisenberg MJ, Pilote L. Effects of early and late administration of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality after myocardial infarction. *Am J Med* 2003;115:473-9.
- 127.** Swedberg K, Held P, Kjeksus J, Rasmussen K, Ryden L, Wedel H. Effects of the early administration of enalapril on mortality in patients with acute myocardial infarction. Results of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II (CONSENSUS II). *N Engl J Med* 1992;327:678-84.
- 128.** Gonzalez-Juanatey JR, Valles Belsue F. [Angiotensin II type 1 receptor antagonists in cardiac insufficiency]. *Med Clin (Barc)* 2000;114 Suppl 1:43-5.
- 129.** Horiuchi M, Akishita M, Dzau VJ. Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system. *Hypertension* 1999;33:613-21.
- 130.** Dickstein K, Kjeksus J. Effects of losartan and captopril on mortality and morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomised trial. Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan. *Lancet* 2002;360:752-60.
- 131.** Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, Solomon SD, Swedberg K, Van de Werf F, White H, Leimberger JD, Henis M, Edwards S, Zelenkofske S, Sellers MA, Califf RM. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med* 2003;349:1893-906.
- 132.** Weber KT, Sun Y, Tyagi SC, Cleutjens JP. Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 1994;26:279-92.
- 133.** Dzau VJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl J:J2-6.
- 134.** Dzau VJ, Colucci WS, Hollenberg NK, Williams GH. Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. *Circulation* 1981;63:645-51.
- 135.** Gonzalez-Juanatey JR, Mazon Ramos P. [Aldosterone blockade in heart failure. So much for so little]. *Med Clin (Barc)* 2002;118:779-81.
- 136.** Struthers AD. Aldosterone escape during ACE inhibitor therapy in chronic heart failure. *Eur Heart J* 1995;16 Suppl N:103-6.

137. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:709-17.
138. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, Bittman R, Hurley S, Kleiman J, Gatlin M. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;348:1309-21.
139. Ciccoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Brighetti G, Marino P, Zardini P. Long-term, dose-dependent effects of spironolactone on left ventricular function and exercise tolerance in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:304-10.
140. Zannad F, Alla F, Dousset B, Perez A, Pitt B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). Rales Investigators. *Circulation* 2000;102:2700-6.
141. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, van Veldhuisen DJ, Swedberg K, Shi H, Vincent J, Pocock SJ, Pitt B. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med*;364:11-21.
142. Friedman LM, Byington RP, Capone RJ, Furberg CD, Goldstein S, Lichstein E. Effect of propranolol in patients with myocardial infarction and ventricular arrhythmia. *J Am Coll Cardiol* 1986;7:1-8.
143. Colucci WS, Packer M, Bristow MR, Gilbert EM, Cohn JN, Fowler MB, Krueger SK, Hersherberger R, Uretsky BF, Bowers JA, Sackner-Bernstein JD, Young ST, Holcslaw TL, Lukas MA. Carvedilol inhibits clinical progression in patients with mild symptoms of heart failure. US Carvedilol Heart Failure Study Group. *Circulation* 1996;94:2800-6.
144. Packer M, Colucci WS, Sackner-Bernstein JD, Liang CS, Goldscher DA, Freeman I, Kukin ML, Kinhal V, Udelson JE, Klapholz M, Gottlieb SS, Pearl D, Cody RJ, Gregory JJ, Kantrowitz NE, LeJemtel TH, Young ST, Lukas MA, Shusterman NH. Double-blind, placebo-controlled study of the effects of carvedilol in patients with moderate to severe heart failure. The PRECISE Trial. Prospective Randomized Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise. *Circulation* 1996;94:2793-9.
145. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med* 1996;334:1349-55.
146. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001-7.

- 147.** Senior R, Basu S, Kinsey C, Schaeffer S, Lahiri A. Carvedilol prevents remodeling in patients with left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1999;137:646-52.
- 148.** Basu S, Senior R, Raval U, van der Does R, Bruckner T, Lahiri A. Beneficial effects of intravenous and oral carvedilol treatment in acute myocardial infarction. A placebo-controlled, randomized trial. *Circulation* 1997;96:183-91.
- 149.** Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 2001;357:1385-90.
- 150.** Doughty RN, Whalley GA, Walsh HA, Gamble GD, Lopez-Sendon J, Sharpe N. Effects of carvedilol on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: the CAPRICORN Echo Substudy. *Circulation* 2004;109:201-6.
- 151.** Li B, Liao YH, Cheng X, Ge H, Guo H, Wang M. Effects of carvedilol on cardiac cytokines expression and remodeling in rat with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006;111:247-55.
- 152.** Chen ZM, Pan HC, Chen YP, Peto R, Collins R, Jiang LX, Xie JX, Liu LS. Early intravenous then oral metoprolol in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1622-32.
- 153.** Ray KK, Cannon CP. Early time to benefit with intensive statin treatment: could it be the pleiotropic effects? *Am J Cardiol* 2005;96:54F-60F.
- 154.** Bauersachs J, Galuppo P, Fraccarollo D, Christ M, Ertl G. Improvement of left ventricular remodeling and function by hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition with cerivastatin in rats with heart failure after myocardial infarction. *Circulation* 2001;104:982-5.
- 155.** Hayashidani S, Tsutsui H, Shiomi T, Suematsu N, Kinugawa S, Ide T, Wen J, Takeshita A. Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation* 2002;105:868-73.
- 156.** Nahrendorf M, Hu K, Hiller KH, Galuppo P, Fraccarollo D, Schweizer G, Haase A, Ertl G, Bauer WR, Bauersachs J. Impact of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction: an experimental serial cardiac magnetic resonance imaging study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1695-700.
- 157.** Landmesser U, Engberding N, Bahlmann FH, Schaefer A, Wiencke A, Heineke A, Spiekermann S, Hilfiker-Kleiner D, Templin C, Kotlarz D, Mueller M, Fuchs M, Hornig B, Haller H, Drexler H. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization, myocardial neovascularization, left ventricular function, and survival after experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2004;110:1933-9.

158. Oz MC, Konertz WF, Kleber FX, Mohr FW, Gummert JF, Ostermeyer J, Lass M, Raman J, Acker MA, Smedira N. Global surgical experience with the Acorn cardiac support device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:983-91.
159. Blom AS, Pilla JJ, Gorman RC, 3rd, Gorman JH, Mukherjee R, Spinale FG, Acker MA. Infarct size reduction and attenuation of global left ventricular remodeling with the CorCap cardiac support device following acute myocardial infarction in sheep. *Heart Fail Rev* 2005;10:125-39.
160. Blom AS, Mukherjee R, Pilla JJ, Lowry AS, Yarbrough WM, Mingoia JT, Hendrick JW, Stroud RE, McLean JE, Affuso J, Gorman RC, Gorman JH, 3rd, Acker MA, Spinale FG. Cardiac support device modifies left ventricular geometry and myocardial structure after myocardial infarction. *Circulation* 2005;112:1274-83.
161. Arenal A, Villemaire C, Nattel S. Mechanism of selective epicardial activation delay during acute myocardial ischemia in dogs. *Circulation* 1993;88:2381-8.
162. Prinzen FW, Hunter WC, Wyman BT, McVeigh ER. Mapping of regional myocardial strain and work during ventricular pacing: experimental study using magnetic resonance imaging tagging. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1735-42.
163. Bradley DJ, Bradley EA, Baughman KL, Berger RD, Calkins H, Goodman SN, Kass DA, Powe NR. Cardiac resynchronization and death from progressive heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Jama* 2003;289:730-40.
164. Chung ES, Menon SG, Weiss R, Schloss EJ, Chow T, Kereiakes DJ, Mazur W, Salo RW, Galle E, Pastore JM. Feasibility of biventricular pacing in patients with recent myocardial infarction: impact on ventricular remodeling. *Congest Heart Fail* 2007;13:9-15.
165. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-7.
166. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;346:5-15.
167. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005;96:151-63.
168. Wojakowski W, Tendera M, Michalowska A, Majka M, Kucia M, Maslankiewicz K, Wyderka R, Ochala A, Ratajczak MZ. Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110:3213-20.

- 169.** Leone AM, Rutella S, Bonanno G, Abbate A, Rebuzzi AG, Giovannini S, Lombardi M, Galiuto L, Liuzzo G, Andreotti F, Lanza GA, Contemi AM, Leone G, Crea F. Mobilization of bone marrow-derived stem cells after myocardial infarction and left ventricular function. *Eur Heart J* 2005;26:1196-204.
- 170.** Wojakowski W, Tendera M, Zebzda A, Michalowska A, Majka M, Kucia M, Maslankiewicz K, Wyderka R, Krol M, Ochala A, Kozakiewicz K, Ratajczak MZ. Mobilization of CD34(+), CD117(+), CXCR4(+), c-met(+) stem cells is correlated with left ventricular ejection fraction and plasma NT-proBNP levels in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006;27:283-9.
- 171.** Schomig K, Busch G, Steppich B, Sepp D, Kaufmann J, Stein A, Schomig A, Ott I. Interleukin-8 is associated with circulating CD133+ progenitor cells in acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006;27:1032-7.
- 172.** Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007;448:313-7.
- 173.** Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007;318:1917-20.
- 174.** Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, Perez-Terzic C, Ikeda Y, Terzic A. Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells. *Circulation* 2009;120:408-16.
- 175.** Fong CY, Gauthaman K, Bongso A. Teratomas from pluripotent stem cells: A clinical hurdle. *J Cell Biochem.*
- 176.** Sanchez PL, San Roman JA, Villa A, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F. Contemplating the bright future of stem cell therapy for cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3 Suppl 1:S138-51.
- 177.** Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
- 178.** Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;428:668-73.
- 179.** Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, Pasumarthi KB, Virag JJ, Bartelmez SH, Poppa V, Bradford G, Dowell JD, Williams DA, Field LJ. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;428:664-8.
- 180.** Sanchez PL, Villa A, Sanz R, Dominguez M, Ludwig I, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F. Present and future of stem cells for cardiovascular therapy. *Ann Med* 2007;39:412-27.

- 181.** Mendez-Ferrer S, Ellison GM, Torella D, Nadal-Ginard B. Resident progenitors and bone marrow stem cells in myocardial renewal and repair. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3 Suppl 1:S83-9.
- 182.** Ince H, Valgimigli M, Petzsch M, de Lezo JS, Kuethe F, Dunkelmann S, Biondi-Zoccai G, Nienaber CA. Cardiovascular events and re-stenosis following administration of G-CSF in acute myocardial infarction: systematic review and meta-analysis. *Heart* 2008;94:610-6.
- 183.** Takano H, Qin Y, Hasegawa H, Ueda K, Niitsuma Y, Ohtsuka M, Komuro I. Effects of G-CSF on left ventricular remodeling and heart failure after acute myocardial infarction. *J Mol Med* 2006;84:185-93.
- 184.** Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, Kalantzi M, Herbots L, Sinnaeve P, Dens J, Maertens J, Rademakers F, Dymarkowski S, Gheysens O, Van Cleemput J, Bormans G, Nuyts J, Belmans A, Mortelmans L, Boogaerts M, Van de Werf F. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:113-21.
- 185.** Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47-9.
- 186.** Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
- 187.** Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P. [Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction]. *Dtsch Med Wochenschr* 2001;126:932-8.
- 188.** Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
- 189.** Schachinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, Abolmaali ND, Vogl TJ, Hofmann WK, Martin H, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1690-9.
- 190.** Schachinger V, Assmus B, Honold J, Lehmann R, Hofmann WK, Martin H, Dimmeler S, Zeiher AM. Normalization of coronary blood flow in the infarct-related artery after intracoronary progenitor cell therapy: intracoronary Doppler substudy of the TOPCARE-AMI trial. *Clin Res Cardiol* 2006;95:13-22.

- 191.** Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, Zhang JJ, Chunhua RZ, Liao LM, Lin S, Sun JP. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92-5.
- 192.** Kuethe F, Richartz BM, Sayer HG, Kasper C, Werner GS, Hoffken K, Figulla HR. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans with large anterior myocardial infarctions. *Int J Cardiol* 2004;97:123-7.
- 193.** Aviles FF, San Roman JA, Garcia Frade J, Valdes M, Sanchez A, de la Fuente L, Penarrubia MJ, Fernandez ME, Tejedor P, Duran JM, Hernandez C, Sanz R, Garcia Sancho J. [Intracoronary stem cell transplantation in acute myocardial infarction]. *Rev Esp Cardiol* 2004;57:201-8.
- 194.** Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, Fernandez ME, Penarrubia MJ, de la Fuente L, Gomez-Bueno M, Cantalapiedra A, Fernandez J, Gutierrez O, Sanchez PL, Hernandez C, Sanz R, Garcia-Sancho J, Sanchez A. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004;95:742-8.
- 195.** Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004;363:751-6.
- 196.** Kang HJ, Kim HS, Koo BK, Kim YJ, Lee D, Sohn DW, Oh BH, Park YB. Intracoronary infusion of the mobilized peripheral blood stem cell by G-CSF is better than mobilization alone by G-CSF for improvement of cardiac function and remodeling: 2-year follow-up results of the Myocardial Regeneration and Angiogenesis in Myocardial Infarction with G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion (MAGIC Cell) 1 trial. *Am Heart J* 2007;153:237 e1-8.
- 197.** Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.
- 198.** Meyer GP, Wollert KC, Drexler H. Stem cell therapy: a new perspective in the treatment of patients with acute myocardial infarction. *Eur J Med Res* 2006;11:439-46.
- 199.** Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, Van Haute I, Lootens N, Heyndrickx G, Wijns W. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation* 2005;112:1178-83.

- 200.** Katritsis DG, Sotiropoulou PA, Karvouni E, Karabinos I, Korovesis S, Perez SA, Vroidis EM, Papamichail M. Transcatheter transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005;65:321-9.
- 201.** Ge J, Li Y, Qian J, Shi J, Wang Q, Niu Y, Fan B, Liu X, Zhang S, Sun A, Zou Y. Efficacy of emergent transcatheter transplantation of stem cells for treatment of acute myocardial infarction (TCT-STAMI). *Heart* 2006;92:1764-7.
- 202.** Kang HJ, Lee HY, Na SH, Chang SA, Park KW, Kim HK, Kim SY, Chang HJ, Lee W, Kang WJ, Koo BK, Kim YJ, Lee DS, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Park YB, Kim HS. Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction: the MAGIC Cell-3-DES randomized, controlled trial. *Circulation* 2006;114:1145-51.
- 203.** Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, Endresen K, Ilebakk A, Mangschau A, Fjeld JG, Smith HJ, Taraldsrud E, Groggaard HK, Bjornerheim R, Brekke M, Muller C, Hopp E, Ragnarsson A, Brinchmann JE, Forfang K. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:1199-209.
- 204.** Lunde K, Solheim S, Forfang K, Arnesen H, Brinch L, Bjornerheim R, Ragnarsson A, Egeland T, Endresen K, Ilebakk A, Mangschau A, Aakhus S. Anterior myocardial infarction with acute percutaneous coronary intervention and intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells: safety, clinical outcome, and serial changes in left ventricular function during 12-months' follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:674-6.
- 205.** Beitnes JO, Hopp E, Lunde K, Solheim S, Arnesen H, Brinchmann JE, Forfang K, Aakhus S. Long-term results after intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction: the ASTAMI randomised, controlled study. *Heart* 2009;95:1983-9.
- 206.** Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:1210-21.
- 207.** Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Werner N, Haase J, Neuzner J, Germing A, Mark B, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* 2006;27:2775-83.
- 208.** Assmus B, Rolf A, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Tillmanns H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Tonn T, Dimmeler S, Dill T, Zeiher AM, Schachinger V. Clinical outcome 2 years after

intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *Circ Heart Fail*;3:89-96.

209. Steinwender C, Hofmann R, Kammler J, Kypta A, Pichler R, Maschek W, Schuster G, Gabriel C, Leisch F. Effects of peripheral blood stem cell mobilization with granulocyte-colony stimulating factor and their transc coronary transplantation after primary stent implantation for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2006;151:1296 e7-13.

210. Suarez de Lezo J, Herrera C, Pan M, Romero M, Pavlovic D, Segura J, Sanchez J, Ojeda S, Torres A. [Regenerative therapy in patients with a revascularized acute anterior myocardial infarction and depressed ventricular function]. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:357-65.

211. Li ZQ, Zhang M, Jing YZ, Zhang WW, Liu Y, Cui LJ, Yuan L, Liu XZ, Yu X, Hu TS. The clinical study of autologous peripheral blood stem cell transplantation by intracoronary infusion in patients with acute myocardial infarction (AMI). *Int J Cardiol* 2007;115:52-6.

212. Meluzin J, Mayer J, Groch L, Janousek S, Hornacek I, Hlinomaz O, Kala P, Panovsky R, Prasek J, Kaminek M, Stanicek J, Klabusay M, Koristek Z, Navratil M, Dusek L, Vinklarkova J. Autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction: the effect of the dose of transplanted cells on myocardial function. *Am Heart J* 2006;152:975 e9-15.

213. Meluzin J, Janousek S, Mayer J, Groch L, Hornacek I, Hlinomaz O, Kala P, Panovsky R, Prasek J, Kaminek M, Stanicek J, Klabusay M, Koristek Z, Navratil M, Dusek L, Vinklarkova J. Three-, 6-, and 12-month results of autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2008;128:185-92.

214. Choi JH, Choi J, Lee WS, Rhee I, Lee SC, Gwon HC, Lee SH, Choe YH, Kim DW, Suh W, Kim DK, Jeon ES. Lack of additional benefit of intracoronary transplantation of autologous peripheral blood stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Circ J* 2007;71:486-94.

215. Penicka M, Horak J, Kobylka P, Pytlik R, Kozak T, Belohlavek O, Lang O, Skalicka H, Simek S, Palecek T, Linhart A, Aschermann M, Widimsky P. Intracoronary injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in patients with large anterior acute myocardial infarction: a prematurely terminated randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2373-4.

216. Huikuri HV, Kervinen K, Niemela M, Ylitalo K, Saily M, Koistinen P, Savolainen ER, Ukkonen H, Pietila M, Airaksinen JK, Knuuti J, Makikallio TH. Effects of intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells on left ventricular function, arrhythmia risk profile, and restenosis after thrombolytic therapy of acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2008;29:2723-32.

217. Tendera M, Wojakowski W, Ruzyllo W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, Musialek P, Piwowarska W, Nessler J, Buszman P, Grajek S, Breborowicz P, Majka M, Ratajczak MZ. Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J* 2009;30:1313-21.
218. Yousef M, Schannwell CM, Kosterling M, Zeus T, Brehm M, Strauer BE. The BALANCE Study: clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:2262-9.
219. Cao F, Sun D, Li C, Narsinh K, Zhao L, Li X, Feng X, Zhang J, Duan Y, Wang J, Liu D, Wang H. Long-term myocardial functional improvement after autologous bone marrow mononuclear cells transplantation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: 4 years follow-up. *Eur Heart J* 2009;30:1986-94.
220. Kuethe F, Figulla HR, Voth M, Richartz BM, Opfermann T, Sayer HG, Krack A, Fritzenwanger M, Hoffken K, Gottschild D, Werner GS. [Mobilization of stem cells by granulocyte colony-stimulating factor for the regeneration of myocardial tissue after myocardial infarction]. *Dtsch Med Wochenschr* 2004;129:424-8.
221. Kuethe F, Figulla HR, Herzau M, Voth M, Fritzenwanger M, Opfermann T, Pachmann K, Krack A, Sayer HG, Gottschild D, Werner GS. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2005;150:115.
222. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Rehders T, Burska D, Kische S, Freund M, Nienaber CA. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation* 2005;112:173-80.
223. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Schmidt H, Rehders T, Korber T, Schumichen C, Freund M, Nienaber CA. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI). *Circulation* 2005;112:3097-106.
224. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, Malagutti P, Curello S, Percoco G, Bugli AM, Della Porta M, Bragotti LZ, Ansani L, Mauro E, Lanfranchi A, Giganti M, Feggi L, Castoldi G, Ferrari R. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. *Eur Heart J* 2005;26:1838-45.

- 225.** Suarez de Lezo J, Torres A, Herrera I, Pan M, Romero M, Pavlovic D, Segura J, Ojeda S, Sanchez J, Lopez Rubio F, Medina A. [Effects of stem-cell mobilization with recombinant human granulocyte colony stimulating factor in patients with percutaneously revascularized acute anterior myocardial infarction]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:253-61.
- 226.** Jorgensen E, Ripa RS, Helqvist S, Wang Y, Johnsen HE, Grande P, Kastrup J. In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMI Trial). *Int J Cardiol* 2006;111:174-7.
- 227.** Ripa RS, Jorgensen E, Wang Y, Thune JJ, Nilsson JC, Sondergaard L, Johnsen HE, Kober L, Grande P, Kastrup J. Stem cell mobilization induced by subcutaneous granulocyte-colony stimulating factor to improve cardiac regeneration after acute ST-elevation myocardial infarction: result of the double-blind, randomized, placebo-controlled stem cells in myocardial infarction (STEMMI) trial. *Circulation* 2006;113:1983-92.
- 228.** Zohnhofer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, Meisetschlager G, von Wedel J, Bollwein H, Seyfarth M, Dirschinger J, Schmitt C, Schwaiger M, Kastrati A, Schomig A. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *Jama* 2006;295:1003-10.
- 229.** Engelmann MG, Theiss HD, Hennig-Theiss C, Huber A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger AE, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STEMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1712-21.
- 230.** Ellis SG, Penn MS, Bolwell B, Garcia M, Chacko M, Wang T, Brezina KJ, McConnell G, Topol EJ. Granulocyte colony stimulating factor in patients with large acute myocardial infarction: results of a pilot dose-escalation randomized trial. *Am Heart J* 2006;152:1051 e9-14.
- 231.** Takano H, Hasegawa H, Kuwabara Y, Nakayama T, Matsuno K, Miyazaki Y, Yamamoto M, Fujimoto Y, Okada H, Okubo S, Fujita M, Shindo S, Kobayashi Y, Komiyama N, Takekoshi N, Imai K, Himi T, Ishibashi I, Komuro I. Feasibility and safety of granulocyte colony-stimulating factor treatment in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2007;122:41-7.
- 232.** Leone AM, Galiuto L, Garramone B, Rutella S, Giannico MB, Brugaletta S, Perfetti M, Liuzzo G, Porto I, Burzotta F, Niccoli G, Biasucci LM, Leone G, Rebuzzi AG, Crea F. Usefulness of granulocyte colony-stimulating factor in patients with a large anterior wall acute myocardial infarction to prevent left ventricular remodeling (the rigenera study). *Am J Cardiol* 2007;100:397-403.

- 233.** Deng Z, Yang C, Deng H, Yang A, Geng T, Chen X, Ma A, Liu Z. Effects of GM-CSF on the stem cells mobilization and plasma C-reactive protein levels in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006;113:92-6.
- 234.** Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Steffens J, Lippolt P, Fichtner S, Hecker H, Schaefer A, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006;113:1287-94.
- 235.** Fernandez-Aviles F, Alonso JJ, Duran JM, Gimeno F, Munoz JC, de la Fuente L, San Roman JA. Subacute occlusion, bleeding complications, hospital stay and restenosis after Palmaz-Schatz coronary stenting under a new antithrombotic regimen. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:22-9.
- 236.** Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, Schachinger V, Lehmann R, Martin H, Burck I, Urbich C, Dimmeler S, Zeiher AM, Assmus B. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy. *Clin Res Cardiol.*
- 237.** Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, Zuba-Surma EK, Al-Mallah M, Dawn B. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007;167:989-97.
- 238.** Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Khianey R, Sheiban I, Bartunek J, Vanderheyden M, Kim HS, Kang HJ, Strauer BE, Vetrovec GW. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1761-7.
- 239.** Martin-Rendon E, Brunskill SJ, Hyde CJ, Stanworth SJ, Mathur A, Watt SM. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. *Eur Heart J* 2008;29:1807-18.
- 240.** Zhang S, Sun A, Xu D, Yao K, Huang Z, Jin H, Wang K, Zou Y, Ge J. Impact of timing on efficacy and safety of intracoronary autologous bone marrow stem cells transplantation in acute myocardial infarction: a pooled subgroup analysis of randomized controlled trials. *Clin Cardiol* 2009;32:458-66.
- 241.** Martin-Rendon E, Brunskill S, Doree C, Hyde C, Watt S, Mathur A, Stanworth S. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2008:CD006536.
- 242.** Zhang SN, Sun AJ, Ge JB, Yao K, Huang ZY, Wang KQ, Zou YZ. Intracoronary autologous bone marrow stem cells transfer for patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Cardiol* 2009;136:178-85.

- 243.** Singh S, Arora R, Handa K, Khraisat A, Nagajothi N, Molnar J, Khosla S. Stem cells improve left ventricular function in acute myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2009;32:176-80.
- 244.** Kang S, Yang YJ, Li CJ, Gao RL. Effects of intracoronary autologous bone marrow cells on left ventricular function in acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis for randomized controlled trials. *Coron Artery Dis* 2008;19:327-35.
- 245.** Abdel-Latif A, Bolli R, Zuba-Surma EK, Tleyjeh IM, Hornung CA, Dawn B. Granulocyte colony-stimulating factor therapy for cardiac repair after acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2008;156:216-226 e9.
- 246.** Kang S, Yang Y, Li CJ, Gao R. Effectiveness and tolerability of administration of granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther* 2007;29:2406-18.
- 247.** Fan L, Chen L, Chen X, Fu F. A meta-analysis of stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008;22:45-54.
- 248.** Fan L, Chen L, Fu F, Lin C. Safety and efficacy of granulocyte colony-stimulating factor for patients with recent myocardial infarction: a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2008;129:455-7.
- 249.** Zohnhofer D, Dibra A, Koppa T, de Waha A, Ripa RS, Kastrup J, Valgimigli M, Schomig A, Kastrati A. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor for myocardial recovery after acute myocardial infarction: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1429-37.
- 250.** Bartunek J, Dimmeler S, Drexler H, Fernandez-Aviles F, Galinanes M, Janssens S, Martin J, Mathur A, Menasche P, Priori S, Strauer B, Tendera M, Wijns W, Zeiher A. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. *Eur Heart J* 2006;27:1338-40.
- 251.** Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, Chedrawy E, Eliopoulos N, Chiu RC. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:999-1005.
- 252.** Yoon YS, Park JS, Tkebuchava T, Luedeman C, Losordo DW. Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:3154-7.
- 253.** Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Knapp WH, Drexler H. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation* 2005;111:2198-202.

- 254.** Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, Yeung AC, Johnstone BH, Yock PG, March KL. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* 2005;112:1150-6.
- 255.** Penicka M, Widimsky P, Kobyłka P, Kozak T, Lang O. Images in cardiovascular medicine. Early tissue distribution of bone marrow mononuclear cells after transcatheter transplantation in a patient with acute myocardial infarction. *Circulation* 2005;112:e63-5.
- 256.** Epstein SE, Stabile E, Kinnaird T, Lee CW, Clavijo L, Burnett MS. Janus phenomenon: the interrelated tradeoffs inherent in therapies designed to enhance collateral formation and those designed to inhibit atherogenesis. *Circulation* 2004;109:2826-31.
- 257.** Villa A, Sanchez PL, Fernandez-Aviles F. Ventricular arrhythmias following intracoronary bone marrow stem cell transplantation. *Europace* 2007;9:1222-3.
- 258.** Bartunek J, Vanderheyden M, Wijns W, Timmermans F, Vandekerckhove B, Villa A, Sanchez PL, Arnold R, San Roman JA, Heyndrickx G, Fernandez-Aviles F. Bone-marrow-derived cells for cardiac stem cell therapy: safe or still under scrutiny? *Can J Cardiol* 2007;4 Suppl 1:S100-5.
- 259.** Seeger FH, Tonn T, Krzossok N, Zeiher AM, Dimmeler S. Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:766-72.
- 260.** van Beem RT, Hirsch A, Lommerse IM, Zwaginga JJ, Noort WA, Biemond BJ, Piek JJ, van der Schoot CE, Voermans C. Recovery and functional activity of mononuclear bone marrow and peripheral blood cells after different cell isolation protocols used in clinical trials for cell therapy after acute myocardial infarction. *EuroIntervention* 2008;4:133-8.
- 261.** Villa A, Tejedor-Vinuela P, Sanchez PL, Tapia C, Arnold R, Gomez-Salvador I, Garcia-Frade LJ, Sanchez A, Fernandez-Aviles F, San Roman JA. [Effect of persistent microvascular obstruction on post-infarction ventricular remodeling following intracoronary bone-marrow cell transplantation: a contrast-enhanced cardiac magnetic resonance study]. *Rev Esp Cardiol* 2008;61:602-10.
- 262.** Vulliamy PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004;363:783-4.
- 263.** Beeres SL, Atsma DE, van der Laarse A, Pijnappels DA, van Tuyn J, Fibbe WE, de Vries AA, Ypey DL, van der Wall EE, Schalij MJ. Human adult bone marrow mesenchymal stem cells repair experimental conduction block in rat cardiomyocyte cultures. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1943-52.

- 264.** Chang MG, Tung L, Sekar RB, Chang CY, Cysyk J, Dong P, Marban E, Abraham MR. Proarrhythmic potential of mesenchymal stem cell transplantation revealed in an in vitro coculture model. *Circulation* 2006;113:1832-41.
- 265.** Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP, Duboc D. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078-83.
- 266.** Silvestre JS, Gojova A, Brun V, Potteaux S, Esposito B, Duriez M, Clergue M, Le Ricousse-Roussanne S, Barateau V, Merval R, Groux H, Tobelem G, Levy B, Tedgui A, Mallat Z. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells in ischemic apolipoprotein E-knockout mice accelerates atherosclerosis without altering plaque composition. *Circulation* 2003;108:2839-42.
- 267.** Farb A, Weber DK, Kolodgie FD, Burke AP, Virmani R. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation* 2002;105:2974-80.
- 268.** Boehm M, Olive M, True AL, Crook MF, San H, Qu X, Nabel EG. Bone marrow-derived immune cells regulate vascular disease through a p27(Kip1)-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2004;114:419-26.
- 269.** Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med* 2002;8:403-9.
- 270.** Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, Wang T, Gregg D, Ramaswami P, Pippen AM, Annex BH, Dong C, Taylor DA. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. *Circulation* 2003;108:457-63.
- 271.** Iba O, Matsubara H, Nozawa Y, Fujiyama S, Amano K, Mori Y, Kojima H, Iwasaka T. Angiogenesis by implantation of peripheral blood mononuclear cells and platelets into ischemic limbs. *Circulation* 2002;106:2019-25.
- 272.** Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belem L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatte R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET, Willerson JT. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
- 273.** Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Amano K, Iba O, Imada T, Iwasaka T. Improvement of collateral perfusion and regional function by implantation of peripheral blood mononuclear cells into ischemic hibernating myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1804-10.
- 274.** Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T. Therapeutic angiogenesis for patients with limb

ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:427-35.

275. Mansour S, Vanderheyden M, De Bruyne B, Vandekerckhove B, Delrue L, Van Haute I, Heyndrickx G, Carlier S, Rodriguez-Granillo G, Wijns W, Bartunek J. Intracoronary delivery of hematopoietic bone marrow stem cells and luminal loss of the infarct-related artery in patients with recent myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1727-30.

276. Assmus B, Walter DH, Lehmann R, Honold J, Martin H, Dimmeler S, Zeiher AM, Schachinger V. Intracoronary infusion of progenitor cells is not associated with aggravated restenosis development or atherosclerotic disease progression in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006;27:2989-95.

277. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Pirr J, Rager U, Lippolt P, Hahn A, Fichtner S, Schaefer A, Arseniev L, Ganser A, Drexler H. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: 5-year follow-up from the randomized-controlled BOOST trial. *Eur Heart J* 2009;30:2978-84.

278. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Blomstrom-Lundqvist C, Crea F, Falk V, Filippatos G, Fox K, Huber K, Kastrati A, Rosengren A, Steg PG, Tubaro M, Verheugt F, Weidinger F, Weis M, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Silber S, Aguirre FV, Al-Attar N, Alegria E, Andreotti F, Benzer W, Breithardt O, Danchin N, Di Mario C, Dudek D, Gulba D, Halvorsen S, Kaufmann P, Kornowski R, Lip GY, Rutten F. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2008;29:2909-45.

279. Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, Jacobs AK, Kaul S, Laskey WK, Pennell DJ, Rumberger JA, Ryan T, Verani MS. Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Circulation* 2002;105:539-42.

280. Catania G, Bruni A, Brida A, Cargnel G, Sardina G, Soravia G, Carlini A. [Prognostic stratification of survivors of 1st myocardial infarction: evaluation of regional kinetics and ejection fraction by bidimensional echocardiography]. *G Ital Cardiol* 1990;20:133-43.

281. Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, Julian D, Lengyel M, Neumann FJ, Ruzyllo W, Thygesen C, Underwood SR, Vahanian A, Verheugt FW, Wijns W. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003;24:28-66.

282. Campeau L. The Canadian Cardiovascular Society grading of angina pectoris revisited 30 years later. *Can J Cardiol* 2002;18:371-9.
283. Hamm CW, Braunwald E. A classification of unstable angina revisited. *Circulation* 2000;102:118-22.
284. <http://www.americanheart.org>.
285. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N Engl J Med* 1985;312:932-6.
286. Gibson CM, de Lemos JA, Murphy SA, Marble SJ, Dauterman KW, Michaels A, Barron HV, Antman EM. Methodologic and clinical validation of the TIMI myocardial perfusion grade in acute myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis* 2002;14:233-7.
287. Pijls NH, De Bruyne B, Peels K, Van Der Voort PH, Bonnier HJ, Bartunek JKJJ, Koolen JJ. Measurement of fractional flow reserve to assess the functional severity of coronary-artery stenoses. *N Engl J Med* 1996;334:1703-8.
288. Mason SJ, Fortuin NJ. The use of echocardiography for quantitative evaluation of left ventricular function. *Prog Cardiovasc Dis* 1978;21:119-32.
289. Higgins CB, Norris SL, Gerber KH, Slutsky RA, Ashburn WL, Baily N. Quantitation of left ventricular dimensions and function by digital video subtraction angiography. *Radiology* 1982;144:461-9.
290. Lorenz CH, Walker ES, Morgan VL, Klein SS, Graham TP, Jr. Normal human right and left ventricular mass, systolic function, and gender differences by cine magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 1999;1:7-21.
291. Sheehan FH, Bolson EL, Dodge HT, Mathey DG, Schofer J, Woo HW. Advantages and applications of the centerline method for characterizing regional ventricular function. *Circulation* 1986;74:293-305.
292. Reiber JH, van der Zwet PM, Koning G, von Land CD, van Meurs B, Gerbrands JJ, Buis B, van Voorthuisen AE. Accuracy and precision of quantitative digital coronary arteriography: observer-, short-, and medium-term variabilities. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1993;28:187-98.
293. Dodge HT, Sandler H, Ballew DW, Lord JD, Jr. The use of biplane angiocardigraphy for the measurement of left ventricular volume in man. *Am Heart J* 1960;60:762-76.
294. Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD, Bailey SR, Erbel R, Fitzgerald PJ, Pinto FJ, Rosenfield K, Siegel RJ, Tuzcu EM, Yock PG. American College of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Standards

for Acquisition, Measurement and Reporting of Intravascular Ultrasound Studies (IVUS). A report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1478-92.

295. Kushner FG, Hand M, Smith SC, Jr., King SB, 3rd, Anderson JL, Antman EM, Bailey SR, Bates ER, Blankenship JC, Casey DE, Jr., Green LA, Hochman JS, Jacobs AK, Krumholz HM, Morrison DA, Ornato JP, Pearle DL, Peterson ED, Sloan MA, Whitlow PL, Williams DO. 2009 Focused Updates: ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction (updating the 2004 Guideline and 2007 Focused Update) and ACC/AHA/SCAI Guidelines on Percutaneous Coronary Intervention (updating the 2005 Guideline and 2007 Focused Update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2009;120:2271-306.

296. Sanchez PL, Gimeno F, Ancillo P, Sanz JJ, Alonso-Briales JH, Bosa F, Santos I, Sanchis J, Bethencourt A, Lopez-Messa J, de Prado AP, Alonso JJ, San Roman JA, Fernandez-Aviles F. Role of the paclitaxel-eluting stent and tirofiban in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing postfibrinolysis angioplasty: the GRACIA-3 randomized clinical trial. *Circ Cardiovasc Interv*;3:297-307.

297. Villa A, Arnold R, Sanchez PL, Gimeno F, Ramos B, Cantero T, Fernandez ME, Sanz R, Gutierrez O, Mota P, Garcia-Frade J, San Roman JA, Fernandez-Aviles F. Comparison of neointimal hyperplasia with drug-eluting stents versus bare metal stents in patients undergoing intracoronary bone-marrow mononuclear cell transplantation following acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009;103:1651-6.

298. Arnold R, Villa A, Gutierrez H, Sanchez PL, Gimeno F, Fernandez ME, Gutierrez O, Mota P, Sanchez A, Garcia-Frade J, Fernandez-Aviles F, San Roman JA. Absence of accelerated atherosclerotic disease progression after intracoronary infusion of bone marrow derived mononuclear cells in patients with acute myocardial infarction-angiographic and intravascular ultrasound--results from the TErapia Celular Aplicada al Miocardio Pilot study. *Am Heart J*;159:1154 e1-8.

299. Revilla A, Lopez J, Arnold R, Sanchez PL, Villa A, Pinedo M, Fernandez-Aviles F, San Roman JA. [Long-term changes in left ventricular function following intracoronary stem cell transplantation for acute myocardial infarction]. *Rev Esp Cardiol*;64:334-7.

300. Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:587-92.

301. Sanchez PL, Sanchez-Guijo FM, Villa A, Del Canizo C, Arnold R, San Roman JA, Fernandez-Aviles F. Launching a clinical program of stem cell therapy for cardiovascular repair. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4 Suppl 1:S123-9.

- 302.** Kueth F, Richartz BM, Kasper C, Sayer HG, Hoeffken K, Werner GS, Figulla HR. Autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in chronic ischemic cardiomyopathy in humans. *Int J Cardiol* 2005;100:485-91.
- 303.** Aros F, Cunat J, Loma-Orsio A, Torrado E, Bosch X, Rodriguez JJ, Lopez Bescos L, Ancillo P, Pabon P, Heras M, Marrugat J. [Management of myocardial infarction in Spain in the year 2000. The PRIAMHO II study]. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:1165-73.
- 304.** Volpi A, Cavalli A, Turato R, Barlera S, Santoro E, Negri E. Incidence and short-term prognosis of late sustained ventricular tachycardia after myocardial infarction: results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI-3) Data Base. *Am Heart J* 2001;142:87-92.
- 305.** Smits PC, van Geuns RJ, Poldermans D, Bountiokos M, Onderwater EE, Lee CH, Maat AP, Serruys PW. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:2063-9.
- 306.** Siminiak T, Kalawski R, Fiszer D, Jerzykowska O, Rzezniczak J, Rozwadowska N, Kurpisz M. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J* 2004;148:531-7.
- 307.** Dib N, Michler RE, Pagani FD, Wright S, Kereiakes DJ, Lengerich R, Binkley P, Buchele D, Anand I, Swingen C, Di Carli MF, Thomas JD, Jaber WA, Opie SR, Campbell A, McCarthy P, Yeager M, Dilsizian V, Griffith BP, Korn R, Kreuger SK, Ghazoul M, MacLellan WR, Fonarow G, Eisen HJ, Dinsmore J, Diethrich E. Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy: four-year follow-up. *Circulation* 2005;112:1748-55.
- 308.** Chachques JC, Herreros J, Trainini J, Juffe A, Rendal E, Prosper F, Genovese J. Autologous human serum for cell culture avoids the implantation of cardioverter-defibrillators in cellular cardiomyoplasty. *Int J Cardiol* 2004;95 Suppl 1:S29-33.
- 309.** Goldstein JA, Demetriou D, Grines CL, Pica M, Shoukfeh M, O'Neill WW. Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2000;343:915-22.
- 310.** Stone GW, Grines CL, Cox DA, Garcia E, Tchong JE, Griffin JJ, Guagliumi G, Stuckey T, Turco M, Carroll JD, Rutherford BD, Lansky AJ. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;346:957-66.
- 311.** Nuhrenberg TG, Voisard R, Fahlisch F, Rudelius M, Braun J, Gschwend J, Kountides M, Herter T, Baur R, Hombach V, Baeuerle PA, Zohnhofer D. Rapamycin attenuates vascular wall inflammation and progenitor cell promoters after angioplasty. *Faseb J* 2005;19:246-8.

312. Chen TG, Chen JZ, Wang XX. Effects of rapamycin on number activity and eNOS of endothelial progenitor cells from peripheral blood. *Cell Prolif* 2006;39:117-25.
313. Imanishi T, Kobayashi K, Kuki S, Takahashi C, Akasaka T. Sirolimus accelerates senescence of endothelial progenitor cells through telomerase inactivation. *Atherosclerosis* 2006;189:288-96.
314. Belotti D, Vergani V, Drudis T, Borsotti P, Pitelli MR, Viale G, Giavazzi R, Taraboletti G. The microtubule-affecting drug paclitaxel has antiangiogenic activity. *Clin Cancer Res* 1996;2:1843-9.
315. Axel DI, Kunert W, Goggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Kuttner A, Wild DH, Brehm BR, Riessen R, Koveker G, Karsch KR. Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery. *Circulation* 1997;96:636-45.
316. Iwahana M, Utoguchi N, Mayumi T, Goryo M, Okada K. Drug resistance and P-glycoprotein expression in endothelial cells of newly formed capillaries induced by tumors. *Anticancer Res* 1998;18:2977-80.
317. Kang HJ, Kim YS, Koo BK, Park KW, Lee HY, Sohn DW, Oh BH, Park YB, Kim HS. Effects of stem cell therapy with G-CSF on coronary artery after drug-eluting stent implantation in patients with acute myocardial infarction. *Heart* 2008;94:604-9.
318. Cho HJ, Kim TY, Cho HJ, Park KW, Zhang SY, Kim JH, Kim SH, Hahn JY, Kang HJ, Park YB, Kim HS. The effect of stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor on neointimal hyperplasia and endothelial healing after vascular injury with bare-metal versus paclitaxel-eluting stents. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:366-74.
319. Kong D, Melo LG, Gneccchi M, Zhang L, Mostoslavsky G, Liew CC, Pratt RE, Dzau VJ. Cytokine-induced mobilization of circulating endothelial progenitor cells enhances repair of injured arteries. *Circulation* 2004;110:2039-46.
320. Griesse DP, Ehsan A, Melo LG, Kong D, Zhang L, Mann MJ, Pratt RE, Mulligan RC, Dzau VJ. Isolation and transplantation of autologous circulating endothelial cells into denuded vessels and prosthetic grafts: implications for cell-based vascular therapy. *Circulation* 2003;108:2710-5.
321. Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, Nickenig G. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res* 2003;93:e17-24.
322. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, Dimmeler S, Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005;111:2981-7.

- 323.** Moller JE, Hillis GS, Oh JK, Reeder GS, Gersh BJ, Pellikka PA. Wall motion score index and ejection fraction for risk stratification after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2006;151:419-25.
- 324.** Hombach V, Grebe O, Merkle N, Waldenmaier S, Hoher M, Kochs M, Wohrle J, Kestler HA. Sequelae of acute myocardial infarction regarding cardiac structure and function and their prognostic significance as assessed by magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 2005;26:549-57.
- 325.** Wu KC, Zerhouni EA, Judd RM, Lugo-Olivieri CH, Barouch LA, Schulman SP, Blumenthal RS, Lima JA. Prognostic significance of microvascular obstruction by magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:765-72.

Anexos

Anexo 1. ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Ensayos clínicos con terapia celular para la prevención del remodelado ventricular tras un infarto agudo de miocardio.	41-43
Tabla 2. Características basales de la población a estudio	80-81
Tabla 3. Evolución clínica	82
Tabla 4. Características de los pacientes que presentaron arritmias ventriculares precoces (primer mes postimplante celular)	86
Tabla 5. Características basales y relacionadas con el procedimiento de inyección de células en función del tipo de stent implantado.	88
Tabla 6. Datos angiográficos seriados según tipo de stent.	90
Tabla 7. Evolución de parámetros de IVUS medidos en los bordes proximal y distal del stent en lesión culpable en el seguimiento a 6-9 meses.	92
Tabla 8. Evolución de los parámetros de ecografía intravascular (IVUS) intrastent en el seguimiento en función del tipo de stent implantado.	92
Tabla 9. Datos demográficos, clínicos y tratamiento al alta de ambos grupos en el subestudio de progresión de aterosclerosis coronaria en vaso distal de arteria culpable y en arteria contralateral.	94
Tabla 10. Datos angiográficos basales en segmento distal de arteria culpable.	95
Tabla 11. Datos angiográficos basales en arteria contralateral.	95
Tabla 12. Datos de evolución angiográfica en segmento distal de arteria culpable y en arteria contralateral.	96
Tabla 13. Análisis comparativo de datos demográficos, características del infarto y procedimiento de implante celular entre grupos en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética cardiaca.	101
Tabla 14. Análisis comparativo entre grupos en función del impacto inmediato del infarto en parámetros del estudio de cardiorresonancia basal.	102
Tabla 15. Acontecimientos adversos cardiacos o cerebrovasculares graves en los ensayos clínicos que evaluaron la inyección intracoronaria de células madre en pacientes con IAMSTE reperfundido.	110-111

Anexo 2. ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema del remodelado ventricular adverso postinfarto.	23
Figura 2. Tiempos en la evaluación y tratamiento del infarto.	27
Figura 3. Métodos de movilización y trasplante con progenitores celulares derivados de médula ósea empleados en terapia celular miocárdica.	38
Figura 4. Factores relacionados con la seguridad de la terapia celular aplicada a las enfermedades cardiovasculares.	48
Figura 5. Seguimiento clínico de pacientes sometidos a inyección intracoronaria de células madre postinfarto agudo de miocardio.	53
Figura 6. Protocolo de investigación.	58
Figura 7. Curva de supervivencia de Kaplan Meier (probabilidad de supervivencia libre de acontecimientos adversos cardiacos o cerebrovasculares graves).	83
Figura 8. Curva de supervivencia de Kaplan Meier (probabilidad de supervivencia libre del suceso combinado muerte u hospitalización por causa cardiaca).	83
Figura 9. Ejemplo representativo de un episodio de taquicardia ventricular sostenida monomorfa observado en el primer paciente (A) en el que constatamos complicaciones arrítmicas durante el seguimiento.	85
Figura 10. Taquicardia ventricular no sostenida registrada en Holter de ECG en el paciente C.	85
Figura 11. Imágenes seriadas de IVUS procedentes del mismo paciente inmediatamente tras la inyección celular (A) y en el cateterismo de seguimiento (B).	91
Figura 12. Evolución de parámetros relacionados con el remodelado ventricular postinfarto (volúmenes telediastólico y telesistólico, FEVI e índice de motilidad regional) evaluados con cardiorresonancia magnética.	97-98
Figura 13. Evolución de los parámetros de función ventricular a corto y largo plazo.	99
Figura 14. Evolución de la FEVI a corto y largo plazo.	99
Figura 15. Imágenes de cortes 4 cámaras (A) y eje corto mesoventricular (B) del estudio de resonancia magnética cardiaca basal de un mismo paciente.	100
Figura 16. Variación del volumen telediastólico (VTD) y telesistólico (VTS) ventricular izquierdo en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.	103

Figura 17. Variación del grosor telediastólico de la pared infartada (GrTD) en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.	103
Figura 18. Número de segmentos acinéticos o discinéticos en el análisis regional de la contractilidad basal y en el seguimiento en función de la presencia de OMP en la resonancia magnética basal.	104
Figura 19. Incidencia de arritmias ventriculares.	112
Figura 20. Evolución en la perfusión microvascular de los pacientes tratados con terapia celular y de pacientes revascularizados de forma similar (estudio GRACIA-2) a los que no se le administró tratamiento celular.	118

Anexo 3. Publicaciones obtenidas como resultado de la realización de esta tesis

- I. Artículos originales y *case reports*.
- II. Comunicaciones a congresos nacionales e internacionales.
- III. Artículos de revisión y capítulos de libros sobre terapia celular.

I. Artículos originales y case reports (se adjuntan al final del manuscrito)

Se citan a continuación en orden cronológico inverso:

1. Revilla A, López J, Arnold R, Sánchez PL, Villa A, Pinedo M, Fernández-Avilés F, San Román JA. Evolución a largo plazo de la función ventricular tras la terapia celular intracoronaria en el infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64(4):334–337.
2. Arnold R, Villa A, Gutierrez H, Sanchez PL, Gimeno F, Fernandez ME, Gutierrez O, Mota P, Sánchez A, García-Frade J, Fernandez-Avilés F, San Roman JA. Absence of accelerated atherosclerotic disease progression after intracoronary infusion of bone marrow derived mononuclear cells in patients with acute myocardial infarction—Angiographic and intravascular ultrasound—Results from the TERapia Celular Aplicada al Miocardio Pilot study. *Am Heart J* 2010;159:1154.e1-1154.e8.
3. Villa A, Arnold R, Sanchez PL, Gimeno F, Ramos B, Cantero T, Fernandez ME, Sanz R, Gutierrez O, Mota P, García-Frade J, San Roman JA, Fernandez-Avilés F. Comparison of Neointimal Hyperplasia with Drug-Eluting Stents versus Bare Metal Stents in Patients Undergoing Intracoronary Bone-Marrow Mononuclear Cell Transplantation Following Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2009;103(12):1651-6.
4. Villa A, Tejedor-Viñuela P, Sánchez PL, Tapia C, Arnold R, Gómez-Salvador I, García-Frade LJ, Sánchez A, Fernández-Avilés F, San Román-Calvar JA. Impacto de la obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular postinfarto tras el implante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea: un estudio de cardiorresonancia con contraste. *Rev Esp Car* 2008;61(6):602-10.
5. Villa A, Sanchez PL, Fernandez-Aviles F; for the Terapia Celular Aplicada al Miocardio research group. Ventricular arrhythmias following intracoronary bone marrow stem cell transplantation. *Europace* 2007;9(12):1222-3.

II. Comunicaciones a congresos nacionales e internacionales

Se citan a continuación en orden cronológico inverso:

1. Poster: “Impact of persistent microvascular obstruction on left ventricular remodelling after bone-marrow intracoronary transplantation in post-myocardial infarction: a contrast-enhanced MRI study”. Participación: coautor. Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología. Munich (Alemania), septiembre de 2008.
2. Comunicación oral: “Seguridad a largo plazo del trasplante intracoronario autólogo de progenitores de médula ósea tras un infarto agudo de miocardio”. Participación: autor principal. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2007. Madrid (España), octubre de 2007.
3. Comunicación oral: “La infusión de células madre en la arteria responsable del infarto. ¿Influye en la progresión de la enfermedad coronaria en otras arterias?”. Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2007. Madrid (España), octubre de 2007.
4. Comunicación oral: “Predictores de recuperación de la reserva contráctil en pacientes con infarto agudo de miocardio tratados con terapia celular”. Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2007. Madrid (España), octubre de 2007.
5. Comunicación oral: “Impacto de la obstrucción microvascular en el remodelado ventricular postinfarto detectado con resonancia magnética con contraste”. Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2007. Madrid (España), octubre de 2007.
6. Comunicación oral: “Improvement of contractile reserve after intracoronary bone-marrow cell transplantation in acute myocardial infarction”. Participación: coautor. Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología. Viena (Austria), septiembre de 2007.
7. Poster moderado: “Less hyperplasia inside drug-eluting stents after intracoronary infusion of bone marrow derived stem cells in patients with acute myocardial infarction - analysis of the stented segment with IVUS”. Parti-

- cipación: coautor. Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología. Viena (Austria), septiembre de 2007.
8. Poster: "Intracoronary infusion of bone marrow stem cells is not associated with accelerated atherosclerotic disease progression in patients with acute myocardial infarction: IVUS-analysis at 9-month follow-up ". Participación: coautor. Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología. Viena (Austria), septiembre de 2007.
 9. Comunicación oral: "Keine Progression der Arteriosklerose im Infarktgefäß nach intrakoronarer Stammzellenapplikation nach akutem Myoordinfarkt: Eine IVUS-Analyse im 9-Monats Verlauf". Participación: coautor. Annual Meeting DGK (Congreso Alemán Annual de Cardiología). Mannheim (Alemania), abril de 2007.
 10. Comunicación oral: "Overview of different clinical scenarios in stem cell therapy for cardiovascular repair. Rationale of the team composition." Participación: autor principal. 4º Simposio Internacional de Terapia Celular y Biología Cardiovascular Aplicada. Madrid (España), 26-27 de abril de 2007.
 11. Comunicación oral: "Influencia del stent recubierto sobre la eficacia y seguridad del trasplante intracoronario de progenitores de médula ósea tras un infarto agudo de miocardio". Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2006. Málaga (España), octubre de 2006.
 12. Comunicación oral: "Análisis del segmento tratado con stent por ultrasonido intracoronario tras trasplante intracoronario de progenitores de médula ósea en el infarto agudo de miocardio". Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2006. Málaga (España), octubre de 2006.
 13. Comunicación oral: "Impacto del fallo de la reperusión miocárdica en el resultado del trasplante intracoronario de progenitores de médula ósea postinfarto agudo". Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2006. Málaga (España), octubre de 2006.
 14. Poster: "Recuperación de la reserva contráctil en el miocardio necrótico después del trasplante intracoronario de células madre de médula ósea". Par-

- participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2006. Málaga (España), octubre de 2006.
15. Ponencia invitada: “casos clínico práctico y experiencia del grupo TECAM”. Mesa clínico práctica sobre Regeneración Miocárdica. Participación: autor principal. Curso TEAM 2006 (Terapia Endovascular & Miocárdica). Madrid (España), septiembre de 2006.
 16. Comunicación oral: “Left ventricular function recovery after intracoronary bone marrow mononuclear cell transplantation following an acute myocardial infarction”. Participación: autor principal. Congreso Mundial de Cardiología. Barcelona (España), septiembre de 2006.
 17. E-Poster: “Long-term sustained prevention of postinfarction adverse ventricular remodelling through intracoronary bone-marrow cell transplantation”. Participación: coautor. Congreso Mundial de Cardiología. Barcelona (España), septiembre de 2006.
 18. Poster: “Low incidence of in-stent restenosis and progression of de novo lesions following acute myocardial infarction after intracoronary bone marrow stem cells transplantation”. Participación: coautor. Congreso Mundial de Cardiología. Barcelona (España), septiembre de 2006.
 19. Comunicación oral: “Importance of clinical and imaging assessment for selection and follow-up before launching a stem cell program”. Workshop on “how to launch a clinical program of stem cell therapy for cardiovascular repair. Participación: autor principal. 3er Simposio Internacional sobre Terapia Génica y Celular para la insuficiencia Cardíaca y otras Enfermedades Cardiovasculares. Valladolid (España), 27-28 de abril de 2006.
 20. Póster: “Intracoronary human bone marrow stem cell transplantation and ventricular arrhythmias”. Participación: autor principal. 55th Annual Scientific Sessions del American College of Cardiology. Atlanta, Georgia (EE. UU.), marzo de 2006.
 21. Póster moderado: “Impact of reperfusion at capillary level on the results of intracoronary bone marrow stem cells transplantation following acute myo-

- cardial infarction”. Participación: coautor. Scientific Sessions de la American Heart Association. Dallas, Texas (EE.UU.), noviembre de 2005.
22. Comunicación oral: “Terapia celular con progenitores de médula ósea aplicada al miocardio. Resultados de eficacia en 27 pacientes y factores implicados”. Participación: coautor. XLVII Reunión Nacional AEHH, XXI Congreso de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia. Madrid, octubre de 2005.
23. Comunicación oral: “Prevención del remodelado ventricular tras un infarto agudo de miocardio mediante trasplante intracoronario de células madre de médula ósea”. Participación: autor principal. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2005. Barcelona, octubre de 2005.
24. Comunicación oral: “Impacto del fallo de reperfusión capilar en los resultados del trasplante intracoronario con células madre derivadas de médula ósea”. Participación: autor principal. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2005. Barcelona, octubre de 2005.
25. Comunicación oral: “Factores predictores de mejoría de función ventricular en el trasplante intracoronario de células madre de médula ósea tras un infarto agudo de miocardio”. Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2005. Barcelona, octubre de 2005.
26. Comunicación oral: “La tasa de reestenosis intrastent baja en pacientes con infarto agudo de miocardio tratados con trasplante intracoronario de células madre de médula ósea”. Participación: coautor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares SEC 2005. Barcelona, octubre de 2005.
27. Poster: “Rate of in-stent restenosis is low acute myocardial infarction after intracoronary bone marrow stem cells transplantation”. Participación: coautor. Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología. Estocolmo (Suecia), septiembre de 2005.

III. Artículos de revisión y capítulos de libros sobre terapia celular

Se citan a continuación en orden cronológico inverso:

1. Sanz-Ruiz R, Villa Arranz A, Gutiérrez Ibañes E, Fernández Santos ME, Sánchez Fernández PL, Fernández-Avilés (2011). Capítulo: Randomized Clinical Trials in Stem Cell Therapy for the Heart - Old and New Types of Cells for Cardiovascular Repair. Libro: *Stem Cells in Clinic and Research*, Ali Gholamrezanezhad (Ed.), ISBN: 978-953-307-797-0, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/randomized-clinical-trials-in-stem-cell-therapy-for-the-heart-old-and-new-types-of-cells-for-cardio>
2. Gutiérrez E, Sanz-Ruiz R, Vázquez-Álvarez E, Villa A, Fernández L, Vázquez S, Lorenzo MJ, Fernández-Santos ME, Sánchez PL, Fernández-Avilés F. General overview of the Seventh International Symposium on Stem Cell Therapy and Cardiovascular Innovations. *J. of Cardiovasc. Trans. Res.* 2011;4 (2):115-20.
3. Sanz-Ruiz R, Gutiérrez Ibañes E, Villa Arranz A, Fernández Santos ME, Sánchez Fernández PL, Fernández-Avilés F. Phases I–III Clinical Trials Using Adult Stem Cells. *Stem Cells International* 2010, Article ID 579142. doi:10.4061/2010/579142
4. Vázquez-Álvarez ME, Sanz-Ruiz R, Gutiérrez E, Villa A, Fernández ME, Vázquez S, Lorenzo MJ, Fernández L, Pascual I, Sánchez PL, Fernández-Avilés F. General overview of the Sixth International Symposium on Stem Cell Therapy and Cardiovascular Innovations. *J. of Cardiovasc. Trans. Res.* 2010;3(1):1-7.
5. Sanz R, Fernández-Santos E, Domínguez-Muñoa M, Parma R, Villa A, Fernández L, Sánchez PL, Fernández-Avilés F. Early Translation of Adipose-Derived Cell Therapy for Cardiovascular Disease. *Cell Transplantation* 2009;18:245-54.
6. Villa A, Sanz R, Fernández ME, Elízaga J, Ludwig I, Sanchez PL, Fernández-Avilés F. Panoramic View of The Fifth International Symposium on Stem Cell Therapy and Applied Cardiovascular Biotechnology, April 2008, Madrid (Spain). *J. of Cardiovasc. Trans. Res.* 2009;2:108-13.

7. Fernández-Santos ME, Osende J, Ludwig I, Sanz R, Domínguez M, Villa A, Parma R, Elizaga J, Sánchez PL, Fernández-Avilés F. Libro: *Principios fundamentales de la terapia celular aplicada al miocardio*. Barcelona: Grupo Ars XXI de Comunicación, S.L. 2008. ISBN 978-84-9751-447-7. Depósito Legal: M-20156-2008.
8. Sánchez PL, Villa A, Sanz R, Domínguez M, Ludwig I, Fernández ME, Fernández-Avilés F. Present and future of stem cells for cardiovascular therapy. *Ann Med* 2007;39:412-27.
9. Villa A, Sánchez PL, Sanz R, Domínguez M, Fernández ME, Fernández-Avilés F. What would convince us- From bench to bed to bedside and back. *Eurointervention Supplement* 2007; 2 (Suppl. B): B55-B59. Disponible en http://www.europcronline.com/eurointervention/B_issue/B55/
10. Sanchez PL, Sanchez-Guijo FM, Villa A, Del Canizo C, Arnold R, San Roman JA, Fernandez-Aviles F. Launching a clinical program of stem cell therapy for cardiovascular repair. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4 (Suppl. 1):S123-9.
11. Bartunek J, Vanderheyden M, Wijns W, Timmermans F, Vandekerckhove B, Villa A, Sanchez PL, Arnold R, San Roman JA, Heyndrickx G, Fernandez-Aviles F. Bone-marrow-derived cells for cardiac stem cell therapy: safe or still under scrutiny? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4 (Suppl. 1):S100-5.
12. Villa A, López J, Fernández-Avilés F. Capítulo 15: Trasplante celular ¿Una solución a la vuelta de la esquina? Libro: *de Teresa E, Anguita M. Insuficiencia cardiaca. Datos para el debate. 2ª edición*. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A. 2007. ISBN 84-9835-017-4. Depósito Legal: M-31.758-2006.
13. Sánchez PL, Villa A, San Roman JA, Cantero T, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F. Percutaneous bone-marrow-derived cell transplantation: clinical observations. *Eur Heart J Suppl* 2006; 8 (Suppl H):H23-H31.
14. Sanchez PL, San Roman JA, Villa A, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F. Contemplating the bright future of stem cell therapy for cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3 Suppl 1(S1):S138-S151.

Comunicación breve

Evolución a largo plazo de la función ventricular tras la terapia celular intracoronaria en el infarto agudo de miocardio

Ana Revilla^{a,*}, Javier López^b, Roman Arnold^a, Pedro Luis Sánchez^c, Adolfo Villa^c, Marta Pinedo^a, Francisco Fernández-Avilés^c y José Alberto San Román^a

^a Unidad de Imagen Cardíaca (ICICORELAB), Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR), Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España

^b Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR), Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España

^c Servicio de Cardiología, Hospital General Gregorio Marañón, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 23 de febrero de 2010

Aceptado el 2 de junio de 2010

On-line el 12 de marzo de 2011

Palabras clave:

Células madre

Infarto de miocardio

Resonancia magnética

RESUMEN

El efecto a largo plazo del trasplante intracoronario de células madre de médula ósea tras un síndrome coronario agudo con elevación del ST (SCAEST) es controvertido. Exponemos la evolución a largo plazo de los parámetros relacionados con la función ventricular izquierda en 29 pacientes con SCAEST sometidos a esta técnica. Se realizó resonancia magnética cardíaca basal, al sexto mes y a largo plazo (27 [24-35] meses). La fracción de eyección del ventrículo izquierdo mejoró significativamente al sexto mes ($47,6 \pm 8,9\%$ frente a $52,7 \pm 11,6\%$; $p = 0,001$), mejora que se mantuvo en el seguimiento a largo plazo ($52,4 \pm 11,8\%$; $p = 0,01$ frente a basal, y $p = 0,999$ frente a sexto mes). No se produjeron cambios significativos en los parámetros basales de volumen telediastólico o telesistólico ventricular izquierdo. Nuestro análisis indica que la mejora de la fracción de eyección tras el trasplante celular ocurre tempranamente, dentro de los primeros 6 meses y no se modifica a largo plazo.

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Long-Term Changes in Left Ventricular Function Following Intracoronary Stem Cell Transplantation for Acute Myocardial Infarction

ABSTRACT

Controversy surrounds the long-term effects of intracoronary bone marrow stem cell transplantation after ST-elevation acute myocardial infarction (STEMI). We report on the long-term changes in left ventricular function observed in 29 patients with STEMI who were treated using this technique. Cardiac magnetic resonance imaging was performed at baseline, 6 months after transplantation, and long-term follow-up (median 27 months, interquartile range 24-35 months). The left ventricular ejection fraction had improved significantly by 6 months (from $47.6 \pm 8.9\%$ to $52.7 \pm 11.6\%$; $P = .001$) and this improvement was maintained long-term, at $52.4 \pm 11.8\%$ ($P = .01$ vs. baseline and $P = .999$ vs. 6 months). There was no significant change from baseline in end-diastolic or end-systolic ventricular volume. Our findings indicate the improvement in injection fraction occurs soon after stem cell transplantation, within the first 6 months, and remains unchanged at long-term follow-up.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de la terapia con células madre de médula ósea (CMMO) en el síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST (SCAEST) es la recuperación del miocardio dañado tras el evento isquémico. Se han realizado diversos estudios con esta terapia, inicialmente para demostrar su seguridad y factibilidad^{1,2} y posteriormente para evaluar su impacto en los parámetros de función ventricular y remodelado tras el infarto^{1,3-6}. No obstante, el efecto a largo plazo del trasplante intracoronario de CMMO en el remodelado ventricular tras un SCAEST es controvertido. Nuestro objetivo es analizar la evolución a largo plazo de los parámetros de función ventricular

izquierda en los pacientes con SCAEST sometidos a trasplante intracoronario de CMMO incluidos en el estudio TECAM-piloto (terapia celular aplicada al miocardio).

MÉTODOS

El TECAM-piloto es un ensayo clínico cuyo objetivo era valorar la factibilidad y la seguridad de un programa de trasplante intracoronario de CMMO en pacientes con un primer episodio de SCAEST reciente y reperusión exitosa de la arteria causante. Se realizó entre 2002 y 2005 e incluyó a 64 pacientes con SCAEST con un seguimiento de 58 meses [intervalo intercuartílico (RIQ), 48-60]. El protocolo de inclusión, trasplante y seguimiento clínico se ha descrito previamente².

En todos los pacientes realizamos un seguimiento clínico y de imagen al sexto mes. En los 29 que pertenecían a nuestra área de

* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Avda. Ramón y Cajal 3, 47005 Valladolid, España.
Correo electrónico: arevillaorodea@gmail.com (A. Revilla).

Absence of accelerated atherosclerotic disease progression after intracoronary infusion of bone marrow derived mononuclear cells in patients with acute myocardial infarction—Angiographic and intravascular ultrasound—Results from the TERapia Celular Aplicada al Miocardio Pilot study

Roman Arnold, MD, PhD,^{a,c} Adolfo Villa, MD,^{b,c} Hipólito Gutiérrez, MD,^a Pedro L. Sánchez, MD, PhD,^b Federico Gimeno, MD, PhD,^a Maria E. Fernández, PhD,^b Oliver Gutiérrez, MD,^c Pedro Mota, MD,^a Ana Sánchez, MD, PhD,^d Javier García-Frade, MD, PhD,^c Francisco Fernández-Avilés, MD, PhD, FACC,^b and Jose A. San Román, MD, PhD, FESC^a for the TECAM (TERapia Celular Aplicada al Miocardio) research group Valladolid and Madrid, Spain

Background We tried to evaluate a putative negative effect on coronary atherosclerosis in patients receiving intracoronary infusion of unfractionated bone marrow mononuclear cells (BMMC) following an acute ST-elevation myocardial infarction. Peripheral blood mononuclear cells or enriched CD133⁺ BMMC have been associated with accelerated atherosclerosis of the distal segment of the infarct related artery (IRA).

Methods Thirty-seven patients with ST-elevation myocardial infarction from the TECAM pilot study underwent intracoronary infusion of autologous BMMC 9 ± 3.1 days after onset of symptoms. We compared angiographic changes from baseline to 9 months of follow-up in the distal non-stented segment of the IRA, as well as in the contralateral coronary artery, with a matched control group. A subgroup of 15 treated patients underwent additional IVUS within the distal segment of the IRA.

Results No difference between stem cell and control group were found regarding changes in minimum lumen diameter (0.006 ± 0.42 vs 0.06 ± 0.41 mm, $P = \text{ns}$) and the percentage of stenosis ($-2.68 \pm 12.33\%$ vs $-1.78 \pm 8.75\%$, $P = \text{ns}$) at follow-up. Likewise, no differences were seen regarding changes in the contralateral artery (minimum lumen diameter -0.004 ± 0.54 mm vs -0.06 ± 0.35 mm, $P = \text{ns}$). In the intravascular ultrasound substudy, no changes were demonstrated comparing baseline versus follow-up in maximum area stenosis and plaque volume.

Conclusions In this pilot study, analysis of a subgroup of patients found that intracoronary injection of unfractionated BMMC in patients with acute ST-elevation myocardial infarction was not associated with accelerated atherosclerosis progression at mid term. Prospective, randomised studies in large cohorts with long-term angiographic and intravascular ultrasound follow-up are necessary to determine the safety of this therapy. (Am Heart J 2010;159:1154.e1-1154.e8.)

From the ^aInstitute of Heart Sciences (ICICOR), Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain, ^bDepartment of Cardiology, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain, ^cDepartment of Haematology, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, Spain, and ^dInstitute of Biology and Molecular Genetics (IBGM), University of Valladolid, Valladolid, Spain.

^aContributed equally to this work.

Submitted December 9, 2009; accepted March 20, 2010.

Reprint requests: Roman Arnold, MD, PhD, Department of Cardiology, ICICOR, University Hospital Valladolid, Avda. Ramón y Cajal 3-8, E-47005 Valladolid, Spain.

E-mail: roman.arnold@hotmail.com

0002-8703/\$ - see front matter

© 2010, Mosby, Inc. All rights reserved.

doi:10.1016/j.ahj.2010.03.030

Experimental studies suggest that bone marrow or blood-derived progenitor cells might contribute to enhanced neovascularization of ischemic myocardium^{1,2} and lead to functional improvement of recently infarcted hearts.¹⁻⁵ Those results led to the initiation of clinical trials investigating the effects of intracoronary infusion of different types of stem cells to improve cardiac function in patients with acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI).⁶⁻¹⁴ However, experimental studies show controversial effects of bone marrow-derived stem cells on progression of atherosclerosis. Stem cell delivery could

Comparison of Neointimal Hyperplasia With Drug-Eluting Stents Versus Bare Metal Stents in Patients Undergoing Intracoronary Bone-Marrow Mononuclear Cell Transplantation Following Acute Myocardial Infarction

Adolfo Villa, MD^a, Roman Arnold, MD, PhD^b, Pedro L. Sánchez, MD, PhD^a, Federico Gimeno, MD, PhD^b, Benigno Ramos, MD^b, Teresa Cantero, MD^b, Maria Eugenia Fernández, PhD^c, Ricardo Sanz, MD^a, Oliver Gutiérrez, MD^d, Pedro Mota, MD^b, Javier García-Frade, MD, PhD^d, José Alberto San Román, MD, PhD^b, and Francisco Fernández-Avilés, MD, PhD^{a,*}, for the TECAM (Terapia Celular Aplicada al Miocardio) Research Group

The aims of this study were to assess the safety of drug-eluting stent (DES) use and to compare the incidence of in-stent restenosis (ISR) and neointimal hyperplasia formation according to the type of stent implanted (DES vs bare-metal stents [BMS]) in patients who underwent intracoronary bone marrow mononuclear cell transplantation after acute ST elevation myocardial infarction. Fifty-nine patients with successfully revascularized ST elevation myocardial infarction (37 using BMS and 22 using DES) underwent paired angiographic examinations at baseline and 6 to 9 months after the intracoronary injection of $91 \text{ million} \pm 56 \text{ million}$ autologous bone marrow mononuclear cells. A subgroup of 30 patients also underwent serial intravascular ultrasound examinations. Off-line angiographic assessment showed 4 cases of binary ISR, primarily in BMS (3 cases), and no major adverse cardiac events were associated with stent type (mean follow-up period 41 ± 10 months). At follow-up, angiographic late luminal loss was significantly lower in patients with DES than in those patients with BMS (0.35 ± 0.66 vs 0.71 ± 0.38 mm, $p = 0.011$). Multivariate analysis identified the use of DES ($\beta = -0.32$, 95% confidence interval [CI] -0.57 to -0.26 , $p = 0.03$) and a smaller baseline reference vessel diameter ($\beta = 0.29$, 95% CI 0.04 to 0.54 , $p = 0.02$) as independent predictors of lower late loss. Moreover, intravascular ultrasound showed a significant reduction of in-stent neointimal hyperplasia formation related to DES use compared with BMS use (Δ neointimal hyperplasia volume 5.4 mm^3 [95% CI 2.7 to 28.1] vs 35.9 mm^3 [95% CI 22.0 to 43.6], $p = 0.035$). In conclusion, these findings suggest that the use of DES is safe and may prevent ISR and neointimal hyperplasia formation in patients who undergo intracoronary bone marrow mononuclear cell transplantation after a successfully revascularized ST elevation myocardial infarction. © 2009 Elsevier Inc. (Am J Cardiol 2009;103:1651–1656)

We sought to assess the safety of drug-eluting stent (DES) use and to compare the incidence of in-stent restenosis (ISR) and neointimal hyperplasia formation according to the type of stent implanted (DES vs bare-metal

stents [BMS]) in a cohort of patients who underwent intracoronary bone marrow mononuclear cell (BMMC) transplantation after a successfully revascularized acute ST elevation myocardial infarction (STEMI) in our pilot study of safety.¹

^aDepartment of Cardiology, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain; ^bInstitute of Heart Sciences, Hospital Clínico Universitario, Valladolid; ^cInstituto de Biología y Genética Molecular, University of Valladolid, Spain; and ^dDepartment of Hematology, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, Spain. Manuscript received November 17, 2008; revised manuscript received and accepted February 5, 2009.

This work was supported in part by Junta de Castilla y León and the networks RECAVA and TERCEL (Instituto de Salud Carlos III, Ministry of Science and Innovation, Spain).

*Corresponding author: Tel: 34-914265882; fax: 34-915868276.

E-mail address: faviles@secardiologia.es (F. Fernández-Avilés).

Methods

The study was carried out in compliance with the Declaration of Helsinki, and the ethics committee of Hospital Clínico Universitario de Valladolid approved the study protocol. All patients involved provided informed written consent. The study population consisted of 59 patients who underwent the intracoronary injection of autologous BMMCs after successful reperfusion and infarct-related artery repair (Thrombolysis In Myocardial Infarction [TIMI] flow grade 3 plus residual stenosis $\leq 30\%$) of extensive STEMIs (total

Impacto de la obstrucción microvascular persistente en el remodelado ventricular postinfarto tras el implante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea: un estudio de cardi resonancia con contraste

Adolfo Villa^a, Paula Tejedor-Viñuela^b, Pedro L. Sánchez^c, Cristina Tapia^a, Roman Arnold^a, Itziar Gómez-Salvador^a, Luis J. García-Frade^d, Ana Sánchez^e, Francisco Fernández-Avilés^c y José A. San Román^a

^aInstituto de Ciencias del Corazón (ICICOR). Hospital Clínico Universitario. Valladolid. España.

^bServicio de Cardiología. Hospital General Yagüe. Burgos. España.

^cServicio de Cardiología. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

^dServicio de Hematología. Hospital Universitario del Río Hortega. Valladolid. España.

^eInstituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Universidad de Valladolid. Valladolid. España.

Introducción y objetivos. La cardi resonancia magnética con realce tardío de contraste (RMc) permite la detección precoz de obstrucción microvascular persistente (OMP) tras un infarto. Hemos analizado el impacto de la OMP en el remodelado ventricular de una cohorte de pacientes con infarto agudo de miocardio con ST elevado (IAMSTE) que recibieron implante intracoronario de células mononucleadas de médula ósea autóloga (CMMOA).

Métodos. Catorce pacientes recibieron infusión intracoronaria de 66 ± 39 millones de CMMOA a los 8 ± 2 días de un IAMSTE revascularizado con éxito (flujo TIMI 3 epicárdico). Se realizaron estudios seriados de RMc con gadolinio-DTPA (basal y a los 10 meses del infarto), con análisis de volúmenes y fracción de eyección ventricular izquierda, motilidad regional, tamaño del infarto y presencia de OMP (definida como un área con ausencia de señal en el seno del infarto).

Resultados. Se detectó OMP en 5 (36%) de los 14 pacientes, junto con una tendencia en el estudio basal a presentar un mayor tamaño del infarto, mayores volúmenes y peor función sistólica general y regional de ventrículo izquierdo respecto a aquellos sin OMP. En el seguimiento, la presencia de OMP se relacionó significativamente con un incremento en el volumen telediastólico (25 ± 24 frente a -2 ± 19 ml; $p = 0,037$), ausencia de incremento en el

grosor telediastólico parietal ($p = 0,027$) y una menor reducción en el número de segmentos acinéticos o discinéticos.

Conclusiones. La OMP evaluada precozmente mediante RMc tras un IAMSTE revascularizado con éxito se asocia con un remodelado ventricular izquierdo adverso en pacientes sometidos a implante intracoronario de CMMOA.

Palabras clave: Resonancia magnética cardiovascular. Obstrucción microvascular. Infarto agudo de miocardio. Remodelado. Reperusión. Terapia celular. Médula ósea.

Effect of Persistent Microvascular Obstruction on Post-Infarction Ventricular Remodeling Following Intracoronary Bone-Marrow Cell Transplantation: a Contrast-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Study

Introduction and objectives. Late contrast-enhanced cardiac magnetic resonance (CMR) enables areas of persistent microvascular obstruction (PMO) to be detected early after acute myocardial infarction. Our aim was to evaluate the impact of PMO on subsequent ventricular remodeling in a cohort of patients with acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI) who underwent intracoronary autologous bone-marrow mononuclear cell (ABMMC) transplantation.

Methods. In total, 14 patients underwent intracoronary transplantation of 66 ± 39 10^6 ABMMCs 8 ± 2 days following successful revascularization of a STEMI (i.e., TIMI flow grade 3 in the affected artery). Serial CMR studies with gadolinium-DTPA enhancement were performed at baseline and 10 months after infarction. Left ventricular volume and ejection fraction, regional contractility and the infarct size were measured and the presence of PMO (defined as hypoenhanced areas within the infarcted zone) was investigated.

Results. Overall, PMO was detected in five of the 14 patients (36%). Those with PMO tended to have a larger infarct size, larger ventricular volumes, and poorer regional

Este estudio ha podido llevarse a cabo en parte por la ayuda de la Red de Enfermedades Cardiovasculares (RECAVA) y del Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. En ningún caso las fuentes de financiación participaron en el diseño del estudio, la recogida, el análisis y la interpretación de datos, la redacción del manuscrito o la decisión de enviarlo para publicación o cualquier relación con los autores que pudiera considerarse un conflicto de intereses.

Correspondencia: Dr. A. Villa.
Instituto de Ciencias del Corazón. Hospital Clínico Universitario.
Avda. Ramón y Cajal, 3. 47005 Valladolid. España.
Correo electrónico: adolfovilla74@hotmail.com

Recibido el 18 de julio de 2007.

Aceptado para su publicación el 4 de marzo de 2008.

Case report

doi:10.1093/europeace/eum190

Ventricular arrhythmias following intracoronary bone marrow stem cell transplantation

Adolfo Villa¹, Pedro L. Sanchez², and Francisco Fernandez-Aviles^{2*} for the Terapia Celular Aplicada al Miocardio research group

¹Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR), Hospital Clínico Universitario of Valladolid, Valladolid, Spain; and ²Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

*Corresponding author: Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, C/o Dr Esquerdo 46, 28007 Madrid, Spain. Tel: +34 914265882; fax: +34 915868276. E-mail address: faviles@secardiologia.es

Received 15 April 2007; accepted after revision 8 August 2007

We describe the appearance of delayed episodes of ventricular arrhythmias in 4 patients out of 72 undergoing intracoronary transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells (BMMC) following ST elevated myocardial infarction (STEMI). Two cases with severely depressed systolic function presented electrical storms with monomorphic sustained ventricular tachycardia (SVT) within 2 to 3 days following cell transplantation, even though there were no periprocedural complications. Both patients were implanted with an internal defibrillator (ICD) after ruling out coronary re-occlusion. The remaining 2 patients presented several asymptomatic episodes of non-sustained ventricular tachycardia within one month following cell transfer. Only one of the latter presented syncopal SVT through programmed ventricular stimulation, undergoing ICD implantation afterwards. Neither new arrhythmic episodes nor ICD interventions have occurred during later follow-up of the three ICD patients (639 ± 59 days). Information from large multicenter databases and our historical cohort of STEMI patients indicates that the rate of VT occurring within the first weeks after the initial 48 hours of infarction is significantly lower than that observed in our cell-therapy experience. The lack of information regarding the appearance of malignant arrhythmias in patients with severe systolic dysfunction following this type of therapy after STEMI requires us to be extremely cautious. However, any claim of a mechanism related to cell transfer would be completely speculative with the available data. Therefore, our only aim when reporting our findings is to recommend a short but longer stay (2-3 days) following cell transplantation, particularly in patients with a natural tendency to develop arrhythmic events.

Key words ventricular tachycardia; stem cells; bone marrow; acute myocardial infarction

In this case report, we describe the appearance of delayed episodes of ventricular arrhythmias in 4 patients out of 72 who received intracoronary transplantation of $92 \pm 54 \times 10^6$ autologous bone marrow mononuclear cells (BMMCs) 10 ± 4 days after ST-elevated myocardial infarction. The study protocol included 24 h Holter recordings before discharge, at 1 month, and 9 months later. Two cases with severe left ventricular systolic dysfunction (Patients 1 and 2, *Table 1*) presented elec-

Table 1 Baseline and 9 months' follow-up angiographic left ventricular ejection fraction of the patients with ventricular arrhythmias

Patient	Baseline LVEF (%)	Follow-up LVEF (%)	ICD implanted
1	25	19	Yes
2	26	18	Yes
3	56	60	Yes
4	44	38	No

LVEF, left ventricular ejection fraction; ICD, implantable cardioverter defibrillator.

trical storms with repeated monomorphic sustained ventricular tachycardia (SVT) within 2-3 days following cell transplantation, even though there were no periprocedural complications, arrhythmias on ECG monitoring, or rise in myocardial injury markers on serial determinations during the 24 h immediately thereafter. Both episodes were controlled with infusion of amiodarone, and patients were subsequently implanted with an internal defibrillator (ICD) after ruling out coronary re-occlusion. The remaining two patients, with mild and moderate baseline systolic dysfunction, respectively (*Table 1*), presented several asymptomatic episodes of non-SVT on ECG-Holter recordings within 1 month following cell transfer. One of them (Patient 3) received ICD implantation 6 months after infarction, as syncopal SVT was reproducible through programmed ventricular stimulation, whereas the other one (Patient 4) failed to show inducible arrhythmias at the electrophysiological study. Neither new arrhythmic episodes (SVT or ventricular fibrillation) nor ICD interventions have occurred during later follow-up of the three patients who underwent device implantation (639 ± 59 days), and only one of them continued to receive oral therapy with amiodarone following the arrhythmic event.